

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE LAS FIBRAS NERVIOSAS DEL NERVIO ABDUCENTE DEL PERRO

Morphometric analysis of the nerve fibers of the abducent nerve in dog.

Vivo J., Morales J. L., Diz A., Martínez Galisteo A., Monterde J., Agüera E. y Miró F.

Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas.

Campus Rabanales. Universidad de Córdoba.

Ctra Madrid-Cádiz Km 396.

14014 Córdoba. España.

RESUMEN

Para nuestro estudio hemos analizado la porción intracraneal de los nervios abducentes derechos extraídos de seis perros adultos, de raza pastor alemán. Los nervios fueron analizados con microscopía óptica y microscopía electrónica. En todos los nervios hemos calculado su área y analizado las fibras mielínicas y amielínicas. En ambos tipos de fibras hemos determinado su número, diámetro y área, así como el área y el diámetro del axón correspondiente y el grosor de la vaina de mielina en las fibras mielínicas. El número medio de fibras es de $2473,00 \pm 211,41$ mielínicas y $231,25 \pm 92,67$ amielínicas. El diámetro medio fibrilar fue de $10,45 \pm 1,27$ μm para las fibras mielínicas y $0,47 \pm 0,09$ μm para las amielínicas. Nuestro estudio sobre el nervio abducente muestra que este nervio, en el perro, presenta características estructurales y ultraestructurales semejantes a la de otros nervios y otras especies.

Palabras clave: fibras mielinizadas; fibras amielinizadas; nervio abducente; perro.

SUMMARY

The intracranial portion of the abducent nerve was studied in dogs. The nerves were dissected from six adult German shepherd dogs. The nerves were analysed by both light and electron microscopy. In all nerves we calculated their area and analysed both myelinated and unmyelinated fibers. In both we determined their number, diameter and area; also the area and diameter of the correspondent axon, and the thickness of the myelin sheath. The mean number of fibers was 2473.00 ± 211.41 for myelinated and 231.25 ± 92.67 for unmyelinated ones. The average fiber diameter was 10.45 ± 1.27 μm for myelinated and 0.47 ± 0.09 μm for unmyelinated. This study on the abducent nerve demonstrated that dogs shows structural and ultrastructural characteristics similar to those of other nerves and other species.

Key words: abducent nerve; myelinated fibers; unmyelinated fibers; dog.

INTRODUCCIÓN

El nervio abducente (VI) está constituido, en su origen, por fibras nerviosas mielínicas, que proceden del núcleo motor correspondiente situado en el tronco del encéfalo, siendo el encargado de llevar impulso nervioso a los músculos recto lateral y retractor del globo ocular, a cuyo fin le vemos emerger por la cisura orbitaria del fondo de la órbita. A pesar de ello, en los estudios realizados se han encontrado, en distintas especies, diferentes tipos de fibras en base a sus características morfológicas —mielínicas y amielínicas— (Hahn et al. 1987; Nojyo et al. 1988; Fraher 1989a). El estudio de las características morfológicas, morfométricas o fisiológicas fibrilares de este nervio somatomotor, han sido estudiadas en una gran variedad de especies: en reptiles (Barbas-Henry and Lohman 1988); en anfibios (Kaczmariski 1979); en rata (Hahn et al. 1987; Nojyo et al. 1988; Fraher 1989a, b); en rata y hombre (Bardosi et al. 1990); en oveja (Berardinelli et al. 2000); en oveja y hombre (Abo-El-Enene 1978); en hombre, (Kobayashi et al. 1998; Sawabe et al. 1998; Mariniello et al. 2000); en gato (Batini et al. 1979; Porter and Spencer 1982; Hildebrand et al. 1988; Hayakawa et al. 2000). En el perro las únicas referencias encontradas en la literatura respecto a los nervios de los músculos extraoculares se refieren al nervio oculomotor (Bortolami et al. 1977) y al nervio troclear (Vivo et al. 2004a, b). Por lo tanto, son inexistentes los estudios mencionados en la literatura que hayan realizado un análisis en detalle de las características morfológicas y morfométricas de las fibras nerviosas del nervio abducente del perro.

Nuestro objetivo es determinar en el perro adulto, el área del nervio abducente y sobre las fibras mielínicas y amielínicas analizar su número, diámetro y área, así como el área y el diámetro del axón correspondiente y el grosor de la vaina de mielina, de las fibras mielínicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

En nuestra experiencia se han utilizado seis perros sanos adultos de raza pastor alemán de entre 40-50 kg de peso, obtenidos del lazareto municipal donde fueron eutanasiados por sobredosis anestésica con tiopental (Tiobarbital®). Tras su sacrificio se procedió a levantar la bóveda del cráneo y extraer los nervios abducentes derechos en su recorrido intracraneal.

En primer lugar, los nervios fueron fijados en una solución al 2% de glutaraldehído preparado en un buffer fosfato 0,1 M (pH 7,4), durante la noche se mantienen a 4°C y son nuevamente fijados durante 30 minutos en una solución de tetróxido de osmio al 1% preparado en un buffer fosfato 0,1 M (pH 7,4). Tras deshidratar, en gradientes de etanol, son incluidos en araldita y cortados con un ultramicrotomo LKB en secciones transversales semifinas y ultrafinas. Las secciones semifinas fueron teñidas con azul de toluidina y utilizadas para su examen con microscopio óptico, mientras que las secciones ultrafinas fueron doblemente teñidas con acetato de uracilo y citrato de plomo. Las secciones ultrafinas se estudiaron y fueron fotografiadas en un microscopio electrónico de transmisión Philips CM10.

Las secciones transversas semifinas de los nervios enteros fueron digitalizadas en sucesivas imágenes a 40x, con las que se reconstruyó completamente la sección nerviosa obtenida; por su parte, las secciones ultrafinas fueron examinadas a 10500x y fotografiadas a 25000x. Con el software Sci Image (1998 Scion corporation 82 Worman's Mill Court Suite H Frederick, Maryland 21703) se ha evaluado, en las imágenes semifinas digitalizadas, el área, diámetro mayor y diámetro menor de todas las fibras nerviosas mielínicas y de sus axones correspondientes, por su parte, sobre la reconstrucción completa del nervio se ha medido su área y se ha contado el número de todas las fibras nerviosas mielínicas. Sobre las secciones ultrafinas se han seleccionado cuadrados, ele-

gidos al azar, equivalentes a una superficie del 25% del nervio entero (Berardinelli et al. 2000), en los que se han contado el número de fibras nerviosas amielínicas y sobre las que se han evaluado su área, diámetro mayor y diámetro menor. Conociendo previamente la superficie completa del nervio, el número total de fibras amielínicas, de cada nervio, se calcula por una simple regla aritmética. Los datos se trataron con el programa Microsoft Excel[®] con el que se obtuvo, de cada nervio, para las fibras mielínicas y amielínicas, el porcentaje de cada tipo de fibras respecto al total del nervio, el diámetro medio de la fibra nerviosa, su densidad (número de fibras por mm²), área media, área total (suma del área de todas las fibras) y relativa (expresada en porcentaje del área del nervio). Además, sobre las fibras mielínicas se calculó, el área media del axón y su diámetro medio, el grosor de la vaina de mielina ((diámetro fibrilar menos diámetro del axón)/2) y la razón diámetro axón /diámetro fibrilar. Para cada nervio y para las variables que procediera se obtuvo la desvia-

ción standar (std intra.), igualmente se calculó la media global (obtenida a partir de la media de cada nervio) y su correspondiente desviación standar (std inter) y la media de la std intra.

RESULTADOS

Fibras mielínicas

Las fibras nerviosas mielínicas han sido identificadas al microscopio óptico en todos los nervios examinados gracias a las características de sus vainas de mielina.

En la sección transversal de los nervios se observó, al microscopio óptico, una gran variedad en los tamaños de las fibras mielínicas (Figura 1). El estudio de frecuencias mediante histogramas de los datos globales para cada nervio (todos los datos de los seis nervios analizados) mostró que todas las variables fibrilares analizadas mostraban una distribución unimodal. En cualquier caso, las fibras, independientemente de su tamaño, se distribuían en el nervio de

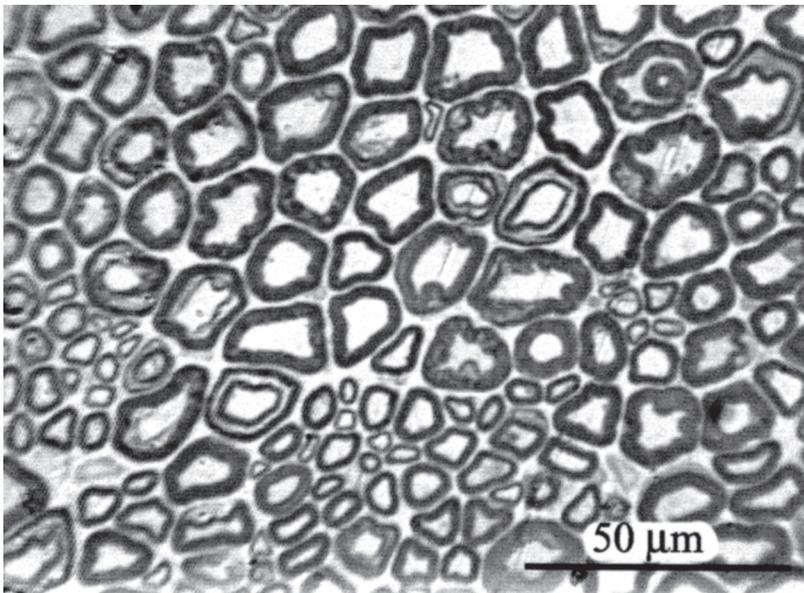


Figura 1. Micrografía óptica de un corte transversal del nervio abducente, observándose la morfología de las fibras mielínicas.

Cuadro 1. Medias y desviaciones típicas de las fibras mielínicas y amielínicas en cada una de las variables analizadas

NERVIJO ABDUCENTE						
	F. mielínicas	std-inter	std-intra	F. amielínicas	std-inter	std-intra
Número fibras	2.473,00	211,41		231,25	92,67	
Porcentaje fibras	91,67	2,79		8,33	2,79	
Área fibrilar (μm^2)	95,21	24,82	61,01	0,29	0,16	0,41
Área total fibras (μm^2)	236.670,35	69.345,33		70,10	55,64	
Área relativa fibras (%)	68,31	8,60		0,02	0,01	
Densidad fibras ($\text{n}^\circ/\text{mm}^2$)	7.488,11	1.893,16		659,38	219,59	
Diámetro fibrilar (μm)	10,45	1,27	3,66	0,47	0,09	0,30
Área axón (μm^2)	33,43	10,97	23,39			
Diámetro axón (μm)	6,25	0,93	2,25			
Grosor mielina (μm)	2,10	0,23	0,86			
Diam. axon/Diam. fibra (μm)	0,60	0,02	0,07			

forma homogénea, no detectándose zonas donde predominara alguna de ellas. El área media de los nervios abducente fue de $349.970,39 \pm 109.043,73 \mu\text{m}^2$, siendo el número medio de fibras mielínicas presentes de 2.473 (rango 2.165 – 2.643), que representan el $91,45 \pm 2,79\%$ del total de las fibras del nervio y que ocupan el 68,31% de la superficie total del nervio. El diámetro fibrilar medio fue de $10,45 \mu\text{m}$ (rango 2,57 – 24,66), siendo el intervalo donde se presentan un mayor número de fibras 12 – 13,5 μm (Figura 2). El diámetro del axón presentó un rango de 1,54 – 17,26 (media 6,25 μm) siendo el del grosor de la vaina de mielina entre 0,43 – 5,14 (media 2,10 μm).

Fibras amielínicas

Las fibras amielínicas nos las encontramos, en todos los nervios, entre las fibras mielínicas con morfología redondeada u oval englobadas por las células de Schwann en grupos de 2-3 fibras nerviosas (Figura 3), no obstante,

también se han observado células de Schwann con un número mayor de fibras amielínicas en todos los nervios estudiados. El estudio de frecuencias de los datos globales de cada nervio, mostró que las variables fibrilares (área y diámetro) estudiadas presentaban una distribución unimodal.

El número medio de fibras amielínicas presentes en los nervios abducentes estudiados fue de 231,25 (rango 99 - 297) que representaban el $8,33 \pm 2,79\%$ del número total de las fibras del nervio y ocupan el 0,02% de la superficie total del nervio. Los valores medios y la variabilidad (std intra medio y std inter) de cada una de las variables, tanto para las fibras mielínicas como amielínicas se exponen en el Cuadro 1.

DISCUSIÓN

Si es cierto que existe una extensa literatura, sobre el nervio oculomotor (III), troclear (IV) y abducente (VI), en determinadas especies, se ha prestado una menor atención al perro, y espe-

cialmente a los aspectos morfométricos de sus fibras nerviosas mielínicas y amielínicas. Las únicas referencias encontradas en la literatura respecto a los nervios de los músculos extraoculares, en esta especie, se refieren al nervio oculomotor (Bortolami et al. 1977) y al nervio troclear (Vivo et al. 2004a, b). Por lo tanto, no existen estudios que hayan realizado un análisis en detalle de las características morfológicas y morfométricas de las fibras nerviosas del nervio abducente del perro.

El espectro de tamaño de las fibras nerviosas mielínicas del nervio abducente del perro, es similar al determinado por Berardinelli et al. (2000) en la oveja, algo superior al señalado por Batini et al. (1979) en el gato, y mucho más amplio al determinado por Hahn et al. (1987) en la rata, y por Hildebrand et al. (1988) en el gato. Este espectro de tamaño presenta una distribución unimodal, lo que concuerda con lo señalado por otros autores en otras especies Hildebrand et al. (1988) en el gato, y difiere de lo apuntado, en esta misma especie, por Batini et al. (1979) y por Berardinelli et al. (2000) en la oveja.

El número de fibras mielínicas halladas en nuestros estudios para el nervio abducente, es menor que en la oveja (Berardinelli et al. 2000) y mayor que en la rata (Fraher 1989a) y el gato (Batini et al. 1979; Hildebrand et al. 1988), y el hombre (Sawabe et al. 1998). No obstante, los porcentajes fibrilares obtenidos en nuestra experiencia son muy similares a los encontrados en la oveja (Berardinelli et al. 2000) y mayores a los señalados en la rata (Fraher 1989a). El número de fibras nerviosas es proporcional al número de músculos (Batini et al. 1979), y más concretamente al número de fibras musculares, a los que inerva cada nervio. Hemos de presuponer que no todas las fibras mielínicas de estos nervios son exclusivamente motoras, pues los estudios realizados por Abo-El-Enene (1978) en la oveja y en el hombre señalan que un importante número de las fibras mielínicas del nervio son fibras aferentes propioceptivas de grande y de pequeño tamaño.

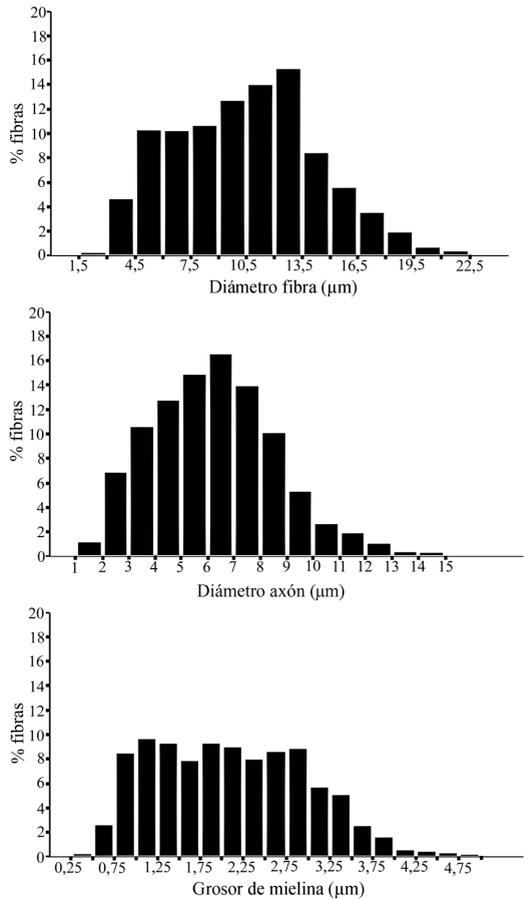


Figura 2. Histogramas de las fibras mielínicas del nervio abducente.

La relación diámetro axón/diámetro fibra que hemos determinado en el nervio abducente del perro, es sensiblemente inferior al determinado en el gato (Fraher 1989b) y en rata y hombre (Bardosi et al. 1990), lo que nos señala que el espesor de las vainas de mielina es proporcionalmente mayor, para estos nervios y a los niveles indicados, en el perro que en la rata, gato y hombre.

En todos los nervios analizados hemos observado, al igual que Fraher (1989a) en la rata y Berardinelli et al. (2000) en la oveja, las fibras

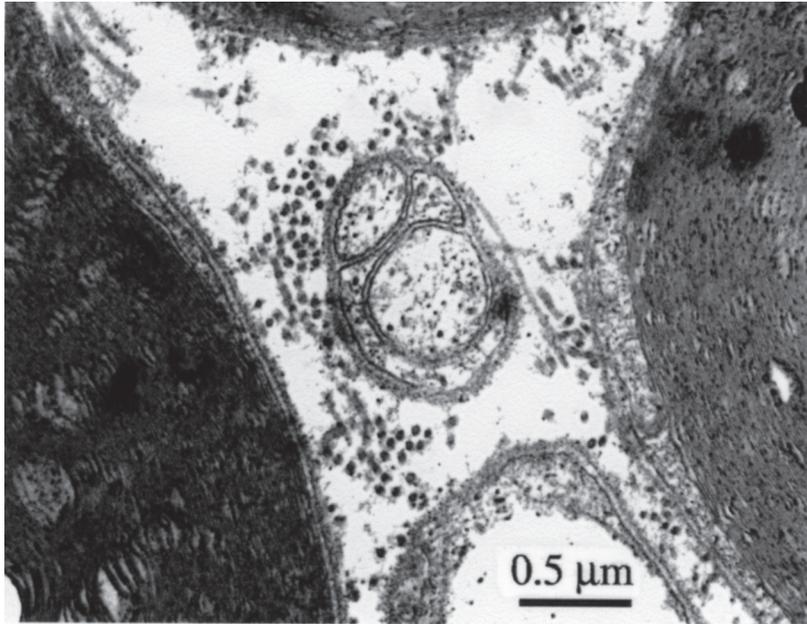


Figura 3. Micrografía electrónica de un corte transversal del nervio abducente, observándose fibras mielínicas y amielínicas.

amielínicas distribuidas en grupos por todas las partes de la sección transversal del nervio.

El número de fibras amielínicas, del nervio abducente, determinado en esta experiencia, es muy superior al aportado por Kobayashi et al. (1998) en el hombre. Las fibras nerviosas amielínicas representan un porcentaje considerable

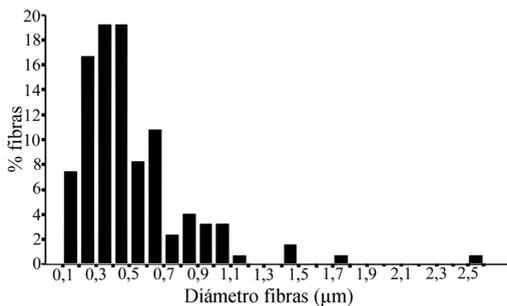


Figura 4. Histograma de las fibras amielínicas del nervio abducente.

del total de las fibras del nervio abducente. Estos porcentajes son muy similares, a los determinados por Berardinelli et al. (2000) en la oveja. Los resultados apuntados por Fraher (1989a) en la rata, y por Hildebrand et al. (1988) en el gato, son mucho mayores a los señalados por nosotros. Respecto al área transversa de las fibras amielínicas, los datos determinados en este estudio, son muy inferiores a los señalados para el nervio abducente por Kobayashi et al. (1998) en el hombre.

Previsiblemente, las fibras amielínicas del nervio de nuestro estudio, como las fibras amielínicas del nervio oculomotor del perro (Bortolami et al. 1977) tengan su cuerpo neuronal en el ganglio semilunar y recojan sensibilidad de los territorios oculares por la rama oftálmica del trigémino. Estas aferencias terminarían mayoritariamente en el subnúcleo gelatinoso del núcleo caudal del trigémino (Bortolami et al., 1977), consideraciones estas que deberán ser

objeto de estudio para el nervio abducente del perro.

En conclusión, nuestro estudio sobre el nervio abducente, muestra que este nervio, en el perro, presenta características estructurales y ultraestructurales semejantes a la de otros nervios y otras especies. Futuras investigaciones sobre los mismos deben indagar en la diferente funcionalidad que puedan poseer tanto sus fibras mielínicas como amielínicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Abo-El-Enene MA. 1978. Proprioceptive afferent fibers in the cranial nerves III, IV and VI. *Acta Anat.* 101: 62-65.
- Barbas-Henry HA., Lohman AH. 1988. The motor nuclei and sensory neurons of the IIIrd, IVth, and VIth cranial nerves in the monitor lizard, *Varanus exanthematicus*. *J. Comp. Neurol.* 267: 387-397.
- Bardosi A., Sallo J., Schafer C., Muhlendy H. 1990. Morphometric comparison between human and rat abducens and oculomotor nerves. *Acta Anat.* 138: 24-31.
- Batfni C., Buisseret-Delmas C., Kado RT. 1979. On the fibers of the III, IV and VI cranial nerves of the cat. *Arch. Ital. Biol.* 117: 111-122.
- Berardinelli P., Scapolo PA., Barazzoni AM., Russo V., Bortolami R. 2000. Nerve fiber composition of the intracranial portion of the oculomotor, trochlear, and abducens nerves in the sheep. *Anat. Rec.* 260: 294-298.
- Bortolami R., Veggetti A., Callegari E., Lucchi ML., Palmieri G. 1977. Afferent fibers and sensory ganglion cells within the oculomotor nerve in some mammals and man. I. Anatomical investigations. *Arch. Ital. Biol.* 115: 355-386.
- Fraher JP. 1989a. Axon numbers in rat oculomotor, trochlear and abducent nerves. *J. Anat.* 166: 151-155.
- Fraher JP. 1989b. Axon-myelin relationships in rat cranial nerves III, IV, and VI: a morphometric study of large - and small -fibre classes. *J. Comp. Neurol.* 286: 384-90.
- Hahn AF., Chang Y., Webster HD. 1987. Development of myelinated nerve fibers in the sixth cranial nerve of the rat: a quantitative electron microscope study. *J. Comp. Neurol.* 260: 491-500.
- Hayakawa T., Itoh M., Miki T., Kaneto T., Tomiyama H., Takeuchi Y. 2000. Sympathetic fiber innervating the extraocular muscles: cells of origin in the cat superior cervical ganglion. *Okajimas Folia Anat. Jpn.* 77: 119-124.
- Hildebrand C., Oscarsson A., Risling M. 1988. Fibre composition of the feline trochlear and abducens nerves. *Brain Res.* 453: 401-407.
- Kaczmarek F. 1979. Quantitative electron-microscopy analysis of cranial nerves III, IV, and VI and of the extrinsic eye muscles in dog. *Folia Histochem. Cytochem.* 17: 121-36.
- Kobayashi N., Sawabe Y., Matsumoto K., Otsuka N., Goto N. 1998. Unmyelinated nerve fiber analysis of the human abducent nerve. *Okajimas Folia Anat. Jpn.* 74: 329-35.
- Mariniello G., Anecchiarico H., Sardo L., Buonamassa S., De Divitiis E. 2000. Connections of sympathetic fibres inside the cavernous sinus: a microanatomical study. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 102: 1-5.
- Nojyo Y., Tamamaki N., Matsuura T., Sano Y. 1988. Histochemical and electron microscopical demonstration of the sympathetic nerve fibers joining to the fourth and sixth cranial nerves in rats. *Histochem.* 88: 557-61.
- Porter JD., Spencer RF. 1982. Localization of morphology of cat extraocular muscle afferent neurones identified by retrograde transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 204: 56-64.
- Sawabe Y., Matsumoto K., Goto N., Otsuka N., Kobayashi N. 1998. Morphometric nerve fiber analysis and aging process of the human abducent nerve. *Okajimas Folia Anat. Jpn.* 74: 337-43.

- Vivo J., Morales JL., Diz A., Galisteo AM., Monterde JG., Blanco A., Agüera E. 2004. Intracranial portion of the trochlear nerve and dorsal oblique muscle composition in dog: a structural and ultrastructural study. *J. Morphol.* 262: 708-713.
- Vivo J., Morales JL., Diz A., Blanco A., Monterde JG., Miró F. 2004. Estudio estructural y ultraestructural de la porción intracraneal del nervio troclear del perro. *An. Vet.* 20: 105-111.