



USC

UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

**Facultad de Medicina
Departamento de Fisiología**

**PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN
PROPIOCEPTIVA EN EL NÚCLEO CUNEATUS**

Roberto Leiras González
Tesis Doctoral
Junio, 2012

» Fotografía de portada (negativo) y contraportada (original):
Neuronas del núcleo *cuneatus* medial en una sección realizada
2.0 mm por detrás del óbex. Inmunohistoquímica *NeuN* realizada
por Tania Liste.



Facultad de Medicina
Departamento de Fisiología

**PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN PROPIOCEPTIVA
EN EL NÚCLEO CUNEATUS**

Roberto Leiras González

Tesis Doctoral

Junio, 2012



Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina
C/ San Francisco, nº 1
15704 Santiago de Compostela

Los Drs. Antonio Canedo Lamas, catedrático, y Francisco Javier Martín Cora, profesor contratado doctor, ambos del Departamento de Fisiología de la Universidad de Santiago de Compostela.

CERTIFICAN QUE:

El presente trabajo de investigación titulado: “PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN PROPIOCEPTIVA EN EL NÚCLEO CUNEATUS”, realizado bajo nuestra dirección en el Departamento de Fisiología de la Universidad de Santiago de Compostela por Roberto Leiras González, reúne las condiciones necesarias para optar al Grado de Doctor en Biología.

Y para que así conste, se firma el presente certificado.

En Santiago de Compostela, a 28 de junio de 2012.

Fdo.: Antonio Canedo Lamas.

Fdo.: Francisco Javier Martín Cora.

Este trabajo ha sido realizado gracias a las partidas presupuestarias concedidas por el Ministerio de Educación y Ciencia para el proyecto de investigación (BFU2006-06598/BFI) y el Ministerio de Ciencia e Innovación (BFU2009-12803).

Roberto Leiras González ha sido becario predoctoral del programa de becas de Formación de Personal Investigador (FPI) del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Artículos publicados

» Soto C., Martín-Cora F., Leiras R., Velo P., Canedo A. (2006). *GABA(B) receptor-mediated modulation of cutaneous input at the cuneate nucleus in anesthetized cats*. Neuroscience. 137(3): 1015-30.

» Perez-Tilve D., Gonzalez-Matias L., Alvarez-Crespo M., Leiras R., Tovar S., Dieguez C., Mallo F. (2007). *Exendin-4 potently decreases ghrelin levels in fasting rats*. Diabetes. 56(1): 143-51.

» Soto C., Martín-Cora F., Leiras R., Velo P., Canedo A. (2008). *Processing noxious information at the subnucleus reticularis dorsalis (SRD) of anaesthetized cats: Wind-up mechanisms*. Pain. 140(1): 190-208.

» Leiras R., Velo P., Martín-Cora F., Canedo A. (2010). *Processing afferent proprioceptive information at the main cuneate nucleus of anesthetized cats*. J. Neurosci. 30(46): 15383-99.

Contribuciones a congresos

» Martín-Cora F.J., Leiras R., Velo P., Canedo A. (2007). Distribution of glycine receptors in the cat central nervous system: an autoradiographic study using [3H] strychnine”. XXXIV Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas (SECF) Congress. Acta Physiologica 190 (S655). Valladolid, España.

» Leiras R., Velo P., Martín-Cora F.J., Soto C., Canedo A. (2008). Subnucleus reticularis dorsalis (SRD): responses to peripheral and spinal electrical stimulation in anaesthetised cats. Wind up mechanisms. 6th FENS Forum of European Neuroscience. FENS Abstr. vol 4, 55.15. Geneva, Switzerland.

» Leiras R., Velo P., Martín-Cora F., Canedo A. (2009). Rostral cuneate nucleus modulate the activity of proprioceptive cuneolemniscal cells of the middle cuneate in anaesthetized cats. 39th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. Program No. 562.07, Neuroscience Meeting Planner. Chicago, IL., EEUU.

» Leiras R., Velo P., Martín-Cora F., Canedo A. (2009). Las neuronas del núcleo cuneatus rostral modulan la actividad de las células propioceptivas cuneolemniscales del cuneatus medio en gatos anestesiados. XIII Congreso de la Sociedad Española de Neurociencia. P246, Libro de resúmenes. Tarragona, España.

» Leiras R., Velo P., Martín-Cora F., Canedo A. (2010). Proprioceptive cuneolemniscal neurons are modulated by GABA and glycine and collateralize to the ipsilateral reticular formation in anesthetized cats. 40th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. Program No. 781.01, Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA., EEUU.

» Velo P., Leiras R., Martín-Cora F., Canedo A. (2010). Thermonociceptive reticulospinal cells collateralize to the subnucleus reticularis dorsalis in anesthetized cats. 40th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. Program No. 896.06, Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA., EEUU.

Agradecimientos

Llegado a este punto es el momento de acordarse de aquellos que, de un modo u otro, son artífices imprescindibles de este trabajo. Empezaré dando las gracias al Dr. Canedo, por aceptarme en su laboratorio y brindarme la oportunidad de hacer investigación en Neurociencia. Al Dr. Martín-Cora le doy las gracias además de por mentor, por ser compañero y amigo al que agradezco sobremanera el empujón de aquel aciago día.

Gracias a Cris, de quien aprendí cómo trabajar en este oficio, por su amistad, su apoyo y su sonrisa. Gracias a mis otros compañeros de laboratorio, a Patricia, por los experimentos maratonianos en los que compartimos bisturís y fatigas, electrodos y frustraciones, pipetas y logros; y a los chicos, Miguel y Tania, por aportar nuevas ideas, por su entusiasmo y tesón.

Mi agradecimiento al Profesor Acuña por el interés que ha mostrado por el trabajo y sus atinados comentarios.

A Juan dlrs muchas gracias por los ánimos, los muchos y buenos consejos, y por las conversaciones de Ciencia y de temas más banales. A Xurxo y a Casto, prestos para la crítica perspicaz y constructiva, y a Luis, más lejos pero siempre cercano.

No me olvido de mis comienzos en Vigo, del Dr. Mallo, con quien di mis primeros pasos en el tortuoso sendero de la Investigación. Agradecimientos especiales para Mayte y Diego (mi hermano mayor en esto de la Ciencia), también a Carlos y a Yolanda; y para los chicos del laboratorio de al lado: Jose Antonio (él es el culpable de que hoy esté aquí), Antonio y Marcos, gracias por los buenos ratos juntos pasados y presentes, las sobremesas, las madrugadas y los despropósitos varios, y especialmente a Estela, además de por lo anterior, por las charlas interminables y los consejos bien medidos. Gracias a Ana y a su “humor especial”, con quien tuve la suerte de reencontrarme años después.

De vuelta en Santiago, gracias mil a María, Chus y Gloria por disfrutar de su compañía y su amistad durante todos estos años y a Luisillo, el Dr. Varela, mi hermano pequeño. A Sulay por su ayuda inestimable en estas y otras lides, por su apoyo, su amistad, sus ánimos... A la irrepetible Cañi, genio y figura, por su amistad y sus comentarios corrosivos, a Luis y a María por los consejos, sus historias y por escuchar las mías.

A los otros chisperos: Jose, Isa, Ana, Mela, Nacho, Víctor, David,... porque saben lo que es pinchar una neurona; a Tamara, Mónica, Omar, Amparo, Ramiro, Marcos R.,

Rucha, Bego, Dani, Pablo D., Laura, Isa B. y Marcos, Eva A. y Jose,... y a los demás compañeros del Departamento por el buen ambiente que hace más llevadero el día a día.

Gracias a César, Héctor, Moni, Ana, More, Tito, por estar ahí en los peores y en los mejores momentos y a TODOS los demás, pues son quienes cargan mis baterías para empezar cada lunes. Gracias a la vieja Vera por regalarme momentos inolvidables.

Un millón de gracias a los que os acordáis de mí cuando no estoy.

Gracias a mi Hermano, porque aunque no lo parezca siempre está, a Rosa que con el tiempo ha dejado de sugerirme que cambie de trabajo y a mis sobrinos, Jose y Silvia, por hacerme sonreír llueva, hiele o nieve.

A mis padres gracias, por todo.

A mi Familia.

*En memoria de José y Dalia,
de Quique y Raúl.*

ÍNDICE

Índice de abreviaturas.....	7
1.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	9
1.1.- Introducción.....	11
1.2.- Receptores propioceptivos: los propioceptores.....	12
1.2.1.- <i>Receptores musculares.</i>	12
1.2.2.- <i>Receptores articulares.</i>	17
1.2.3.- <i>Receptores cutáneos.</i>	18
1.3.- Vías propioceptivas aferentes.....	20
1.3.1.- <i>Vía propioceptiva consciente: Sistema de las columnas dorsales-lemnisco medial.</i>	21
1.3.2.- <i>Vía propioceptiva cuneocerebelosa.</i>	23
1.4.- Los núcleos de las columnas dorsales (DCN).....	25
1.4.1.- <i>Núcleo cuneatus principal o de Burdach (CN).</i>	27
1.4.2.- <i>Núcleo gracilis o de Goll (GN).</i>	28
1.5.- Características estructurales y morfológicas de las tres regiones del núcleo <i>cuneatus</i> principal.....	28
1.5.1.- <i>Segmentación rostro-caudal del núcleo cuneatus principal.</i>	29
1.5.2.- <i>Aferencias primarias al núcleo cuneatus principal.</i>	31
1.5.3.- <i>Aferencias corticales al núcleo cuneatus principal.</i>	33
1.5.4.- <i>Eferencias del núcleo cuneatus principal.</i>	34
1.6.- Propiedades fisiológicas generales de las neuronas propioceptivas del núcleo <i>cuneatus</i> principal, activadas por aferencias fusales.....	36
1.6.1.- <i>Características de la descarga de las neuronas activadas por fibras fusales.</i>	36
1.6.2.- <i>Campos receptores propioceptivos.</i>	38
1.6.3.- <i>Especificidad espacial de las neuronas activadas por las aferencias fusales.</i>	39
1.6.4.- <i>Organización topográfica y musculotopía.</i>	39
1.7.- Neurotransmisores implicados en la transmisión y la modulación de la información somatosensorial a nivel de los DCN.....	40
1.7.1.- <i>Transmisión de la información aferente.</i>	40
1.7.2.- <i>Modulación de la actividad aferente primaria.</i>	40
1.7.3.- <i>Modulación recurrente.</i>	43
1.7.4.- <i>Modulación cortical.</i>	44
1.8.- Modulación de la actividad motora a nivel del tronco del encéfalo.....	45
1.8.1.- <i>Región locomotora mesencefálica (MLR).</i>	45
1.8.2.- <i>El núcleo reticularis gigantocelularis.</i>	47
2.- OBJETIVOS.....	49
3.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	53
3.1.- Animales de experimentación.....	55
3.2.- Anestesia y cirugía.....	55

3.3.- Estimulación eléctrica	57
3.3.1.- Estimulación eléctrica en el mesencéfalo y en el tronco del encéfalo.	57
3.3.2.- Estimulación eléctrica en la médula espinal cervical.	59
3.3.3.- Microestimulación eléctrica en el rvCN.	59
3.4.- Criterios de identificación de las neuronas de proyección al tálamo VPL.....	60
3.5.- Estimulación mecánica	64
3.5.1.- Movimientos pasivos de las articulaciones.	64
3.5.2.- Estiramientos en rampa y presión mantenida (<i>ramp-and-hold stretch</i>).	64
3.5.3.- Estímulos vibratorios sinusoidales.	65
3.6.- Criterios de muestreo de las neuronas propioceptivas	66
3.6.1.- Patrón de descarga de las neuronas activadas por aferencias fusales de tipo Ia.	67
3.6.2.- Respuesta a estímulos vibratorios de alta frecuencia.....	68
3.6.3.- Respuesta a la administración intravenosa de succinilcolina.	69
3.6.4.- Diferenciación de las neuronas propioceptivas del núcleo <i>cuneatus</i> rostral frente a las del núcleo <i>cuneatus</i> externo.	70
3.7.- Técnicas de registro extracelular empleadas	70
3.7.1.- Registro extracelular con electrodos de acero inoxidable y tungsteno.	71
3.7.2.- Registro extracelular combinado con microiontoforesis a través de micropipetas de vidrio de varios canales.	71
3.7.3.- Registros extracelulares simultáneos en el rvCN y en el mvCN.....	73
3.8.- Marcaje de los lugares de estimulación y de registro.....	73
3.9.- Perfusión, extracción y sección del tejido nervioso	73
3.10.- Tinción de los cortes y obtención de microfotografías	74
3.11.- Inmunohistoquímica para la localización de los receptores de glicina.....	74
3.12.- Tratamiento estadístico.....	76
4.- RESULTADOS.....	77
4.1.- Identificación de las neuronas propioceptivas	79
4.2.- Distribución de las neuronas propioceptivas	82
4.2.1.- Localización espacial de las neuronas propioceptivas.	82
4.2.2.- Distribución de las neuronas en función de sus campos receptores.....	85
4.3.- Sensibilidad de las neuronas propioceptivas del núcleo <i>cuneatus</i> al estiramiento mantenido.....	88
4.4.- Respuesta de las células cuneolemniscales del mvCN a la estimulación eléctrica en el ML, el NRGc y la MLR	92
4.4.1.- Respuestas a la estimulación del lemnisco medial.	92
4.4.2.- Respuestas de las neuronas CL a la estimulación del NRGc y de la MLR.	95
4.5.- Estimulación eléctrica en el lemnisco medial y las columnas dorsales: Diferencias en la velocidad de conducción de las fibras propioceptivas y cutáneas	98
4.5.1.- Velocidad de conducción antidrómica.....	98
4.5.2.- Velocidad de conducción de las fibras aferentes primarias.....	99

4.6.- Efecto de la microestimulación eléctrica (50 – 150 μ A) de áreas del rvCN que mostraron campos receptores solapados o no solapados con los de las neuronas registradas simultáneamente en el mvCN.....	102
4.7.- Registros simultáneos en el rvCN y en el mvCN de la actividad inducida por la estimulación mecánica del campo receptor.....	106
4.7.1.- <i>Inhibición de la respuesta a la estimulación en el lemnisco medial inducida por la respuesta a la estimulación del campo receptor.</i>	111
4.8.- Efectos de la eyección microiontoforética de GABA y de glicina sobre la actividad de las neuronas propioceptivas del mvCN.....	113
4.8.1.- <i>Efecto sobre la actividad espontánea.</i>	113
4.8.2.- <i>Efecto sumatorio del GABA y de la glicina sobre la respuesta inducida por la estimulación mecánica del campo receptor.</i>	117
4.8.3.- <i>Efecto de la eyección de bicuculina y de estricnina sobre los silencios provocados por la estimulación del lemnisco medial.</i>	119
4.8.4.- <i>Efecto sobre las respuestas a la microestimulación en el rCN.</i>	120
4.8.5.- <i>Efecto de la aplicación de bicuculina y de estricnina sobre los silencios provocados por la microestimulación en el rvCN.</i>	123
4.8.6.- <i>La bicuculina y la estricnina restauraron la actividad de las neuronas del mvCN silenciadas por la colocación de su articulación activadora en las posiciones máximas de su rango de rotación.</i>	123
4.8.7.- <i>Inhibición tónica del GABA y de la glicina sobre las neuronas propioceptivas.</i> ..	125
4.9.- Distribución preferente de las neuronas que presentan receptores para la glicina en el núcleo <i>cuneatus</i> principal	127
5. DISCUSIÓN	133
5.1.- General	135
5.2.- Respuestas a la estimulación del lemnisco medial. Inhibición recurrente	136
5.3.- Velocidad de conducción de las fibras lemniscales y las fibras aferentes primarias ...	137
5.4.- Colateralización de las neuronas de proyección del mvCN.....	138
5.5.- El efecto inhibitorio del GABA y de la glicina modula la actividad de las neuronas del mvCN de manera que responden al movimiento de una única articulación	139
5.6.- El GABA y la glicina inhiben tónicamente las neuronas del mvCN.....	140
5.7.- Distribución de los receptores de glicina en el núcleo <i>cuneatus</i> principal	141
5.8.- El tamaño de las neuronas del mvCN marcadas para el receptor de la glicina es inferior al de las células del mdCN que también expresan el receptor	141
5.9.- Las neuronas propioceptivas del mvCN y del rvCN se relacionan funcionalmente.....	142
6.- CONCLUSIONES	147
7.- BIBLIOGRAFÍA.....	151
APÉNDICES	165
Apéndice I: Electrodo metálico	167
Apéndice II: Fabricación de pipetas multicanal de vidrio	171
Apéndice III: Protocolos de tinción.....	177

Procesamiento propioceptivo en el núcleo *cuneatus*_____

Índice de abreviaturas

- 2:** Área 2 de la corteza.
- 3a:** Área 3a de la corteza.
- 12:** Núcleo hipogloso.
- AM:** Núcleo ambiguo.
- ans.:** Surco *ansatus*.
- Asc:** Rama ascendente.
- AUTO:** Autocorrelograma.
- b₁:** Fibra intrafusar de bolsa nuclear dinámica.
- b₂:** Fibra intrafusar de bolsa nuclear estática.
- Bicu:** Bicuculina.
- c:** Fibra intrafusar de cadena nuclear.
- cCN:** Núcleo *cuneatus* caudal.
- cf:** Fascículo *cuneatus*.
- cGN:** Núcleo *gracilis* caudal.
- CL:** Células o neuronas cuneolemniscales.
- CN:** Núcleo *cuneatus* principal o de *Burdach*.
- cor.:** Surco *coronalis*.
- cru.:** Surco *cruciatu*s.
- DAB:** 3,3-diaminobencidina tetrahidroclorada.
- DC:** Columnas dorsales.
- DCN:** Núcleos de las columnas dorsales.
- DMV:** Núcleo motor dorsal del vago.
- Dsc:** Rama descendente.
- dRG:** Ganglio de la raíz dorsal.
- eCN:** Núcleo *cuneatus* externo o accesorio.
- EEG:** Electroencefalograma.
- GABA:** Ácido *gamma*-aminobutírico.
- GAD:** Ácido glutámico descarboxilasa.
- Gly:** Glicina.
- GlyR(s):** Receptor(es) de glicina.
- GN:** Núcleo *gracilis* o de *Goll*.
- ICP:** Pedúnculo cerebeloso inferior.
- INTH:** Histograma de intervalos entre espigas.
- IO:** Oliva inferior.
- Lrt:** Núcleo reticular lateral.
- MI:** Corteza motora primaria o área 4 *gamma*.
- mCN:** Núcleo *cuneatus* medial.
- MCx:** Corteza cerebral motora.
- mdCN:** Parte dorsal del núcleo *cuneatus* medial.
- mGN:** Núcleo *gracilis* medial.
- ML:** Lemnisco medial.
- MLR:** Región locomotora mesencefálica.
- MRF:** Formación reticular bulbar.
- mvCN:** Parte ventral del núcleo *cuneatus* medial.
- MVN:** Núcleo vestibular medial.
- nCL:** Células o neuronas no cuneolemniscales.
- NMDA:** *N*-metil-*D*-aspartato.
- NRGc:** Núcleo *reticularis gigantocelularis*.
- NRMc:** Núcleo *reticularis magnocelularis*.
- Pyr:** Pirámide.
- rCN:** Núcleo *cuneatus* rostral.
- rGN:** Núcleo *gracilis* rostral.

rvCN: Parte ventral del núcleo *cuneatus* rostral.

s: Tracto solitario.

Sol: Núcleo del tracto solitario.

SI: Corteza somatosensorial primaria.

SCh: Succinilcolina (cloruro de suxametonio).

SL: Núcleo lateral del tracto solitario.

SM: Núcleo medial del tracto solitario.

SNr: Sustancia negra *pars reticulata*.

Stry: Estricnina.

SP: Espiga espontánea.

Sp5: Núcleo espinal del trigémino.

SRD: Subnúcleo reticular dorsal.

TC: Célula tálamocortical.

TN: Núcleo espinal caudal del trigémino (sólo en la figura 10 de la Introducción, tomada de Fyffe *et al.*, 1986b).

UI: Unidades internacionales.

VIN: Núcleo vestibular inferior.

VPL: Núcleo ventral-posterior-lateral del tálamo.

Z: Núcleo Z.

1.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1.- Introducción

Existen cinco sentidos que nos permiten interactuar con el entorno y captar información crucial para desarrollar comportamientos esenciales para la vida como, por ejemplo, la búsqueda de alimento o la huida ante un peligro. Pero para llevar a cabo estas acciones, es necesaria la ejecución de movimientos precisos y coordinados que permitan alcanzar de manera rápida y eficiente el objetivo. Incluso algo tan básico como el mantenimiento de la postura corporal, sería imposible sin la intervención de un *sexto* sentido que es tan o más importante que aquellos, para desarrollar nuestra vida tal y como la entendemos. Este sexto sentido es la **propiocepción** (del latín *proprius*: uno mismo; *percepción de uno mismo*), que se puede definir en sentido amplio como la capacidad de percibir inconscientemente la posición de unas partes del cuerpo con respecto a las demás.

El carácter inconsciente del procesamiento de gran parte de la información propioceptiva hace que no nos percatemos de su importancia, que se hace claramente patente en pacientes que sufren polineuropatía sensorial, una enfermedad en la que se pierde específicamente la funcionalidad de las fibras que transmiten la información captada por los receptores propioceptivos y táctiles, hacia niveles superiores del sistema nervioso central. Estos pacientes carecen de sistemas de retroalimentación fusimotora, lo que les impide mantenerse en pie o realizar movimientos coordinados. Y aunque unos pocos consiguen mantener el ortostatismo y realizar movimientos sorprendentemente eficientes, compensando la pérdida de las aferencias propioceptivas con referencias visuales, se desploman en cuanto se quedan a oscuras en medio de una habitación.

A pesar de su indudable relevancia fisiológica, al estudio de las neuronas propioceptivas del núcleo *cuneatus* (núcleo de *Burdach*), no se le ha dedicado la misma atención que al de las neuronas activadas por aferencias táctiles, la otra modalidad somatosensorial procesada en los núcleos de las columnas dorsales (*cuneatus* y *gracilis* o de *Goll*). Esto se debe a la complejidad de la respuesta inducida, especialmente en el caso de los receptores fusales, y a la dificultad del uso de estímulos específicos sin alterar las condiciones fisiológicas de los campos receptores propioceptivos. Debido a estas u otras causas, la ausencia de estudios realizados en profundidad, ha propiciado el desconocimiento casi total de los mecanismos de procesamiento de la información propioceptiva a nivel de los núcleos de las columnas dorsales.

Como en todos los procesos de percepción, el de la propiocepción comienza con la activación, por estímulos de diferente naturaleza, de receptores especializados llamados de manera general *propioceptores*.

1.2.- Receptores propioceptivos: los propioceptores

Receptores musculares, articulares y cutáneos

Los propioceptores son mecano-receptores que transducen información útil para la percepción del movimiento y la posición de las partes móviles del cuerpo. Estos receptores se activan con diferentes estímulos y se agrupan en: receptores musculares, articulares y cutáneos. Los tres tipos son sensibles al movimiento en condiciones fisiológicas y la información captada por cada uno de ellos se complementa, y es necesaria para crear la imagen general de la posición espacial del cuerpo (Gandevia *et al.*, 2002).

1.2.1.- Receptores musculares.

Son los husos musculares y los órganos tendinosos de Golgi. Ambos se encuentran en los músculos pero con ubicaciones diferentes que, en parte, determinan sus funciones.

1.2.1.1.- *Husos musculares o neuromusculares.*

Se disponen en paralelo con respecto a las fibras musculares extrafusales y esto, unido a su diseño morfológico, los convierte en estructuras especializadas para la detección de los cambios de longitud del músculo. Esta información será utilizada para determinar la velocidad y la aceleración a la que tienen lugar los movimientos y, en última instancia, informar de la posición espacial que ocupa en todo momento cada una de las partes móviles del cuerpo. En un músculo se pueden encontrar de 8 a 10 husos neuromusculares, formados por entre 3 y 7 fibras musculares especializadas denominadas *fibras intrafusales* (Fig. 1), rodeadas por una cápsula fusiforme de tejido conectivo que delimita un espacio periaxial relleno de líquido. La parte central de las fibras intrafusales constituye la región sensitiva del receptor, mientras que los extremos de las fibras están dotados de capacidad contráctil y están inervados por motoneuronas *gamma* (Fig. 1). Su contracción no contribuye al acortamiento del músculo en el que se encuentran (son poco numerosas), pero es de vital importancia funcional ya que evita que las fibras intrafusales pierdan tensión, se “descarguen”, aun cuando la longitud del músculo se reduzca drásticamente durante una contracción intensa. De esta forma la capacidad de

detectar pequeños cambios en la longitud de las fibras extrafusales se mantiene incluso en esas condiciones. Este mecanismo, conocido como sistema fusimotor, actúa de forma coordinada gracias a la coactivación de las motoneuronas *alfa* (que inervan la musculatura extrafusar) y las *gamma* (que inervan los polos del huso). Las motoneuronas de tipo *beta*, que inervan tanto la musculatura extrafusar como las porciones distales del huso (Prochazka y Hulliger, 1998), son importantes durante las primeras fases de la contracción muscular, cuando se activan las motoneuronas *alfa* más pequeñas.

En el interior del huso se pueden distinguir dos tipos de fibras intrafusales, las fibras de *bolsa nuclear* y las fibras de *cadena nuclear* (Fig. 1). Cada huso está formado por dos fibras del tipo bolsa nuclear (una *dinámica* denominada b_1 y otra *estática*, b_2) y entre 1 y 5 fibras de cadena nuclear o *c*. En la región central de las fibras intrafusales de ambos tipos se enroscan axones aferentes de adaptación lenta de tipo “*Ia*” y “*II*”, también llamados terminaciones primarias y secundarias, respectivamente. Los axones primarios de tipo *Ia*, son los más gruesos y rápidos, los únicos que no contactan con las motoneuronas *gamma* y

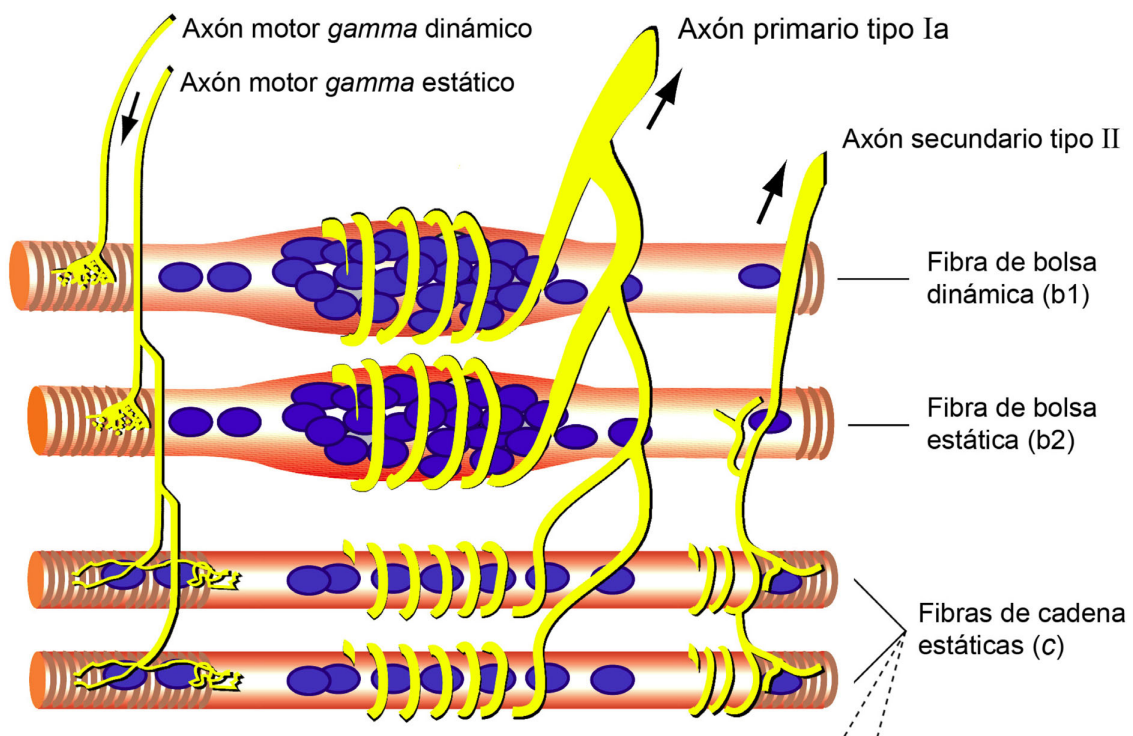


Figura 1. Esquema de la estructura e inervación de un huso muscular. Cada huso está formado por dos fibras intrafusales de bolsa nuclear, una dinámica (b_1) y una estática (b_2) y por 1 – 5 fibras de cadena nuclear (c). Las terminaciones primarias *Ia* inervan los tres tipos de fibras (b_1 , b_2 y c). Las terminaciones secundarias tipo *II* inervan sólo las fibras estáticas (b_2 y c). Los extremos contráctiles de las fibras intrafusales están inervados por axones motores *gamma* dinámicos (las fibras b_1) y estáticos (las fibras b_2 y c ; figura adaptada de Brodal, 2010).

que desencadenan el reflejo miotático responsable del mantenimiento del tono motor. Se ramifican e inervan cada una de las fibras intrafusales formando terminaciones anuloespirales (Fig. 1), mientras que las fibras secundarias de tipo *II* terminan formando anillos incompletos y terminaciones en ramillete, a nivel de la región yuxtaecuatorial de las fibras intrafusales ***b*₂** y ***c***.

Tanto las fibras *Ia* como las de tipo *II* se activan con el estiramiento de la región central del huso, que se mantiene en tensión durante la contracción muscular gracias a la coactivación *alfa-gamma*. Los axones aferentes de tipo *Ia* inervan las fibras intrafusales ***b*₁**, ***b*₂** y ***c*** por lo que presentan propiedades dinámicas y estáticas, es decir, se activan durante el cambio de longitud del músculo y durante el estiramiento mantenido. Mientras que los de tipo *II*, que inervan las fibras ***b*₂** y ***c***, presentan únicamente propiedades estáticas. De este modo, todas las aferencias primarias de origen fusar transmiten información de las fibras intrafusales de tipo ***c***. (Taylor *et al.*, 1992a,b; Durbaba *et al.*, 2006).

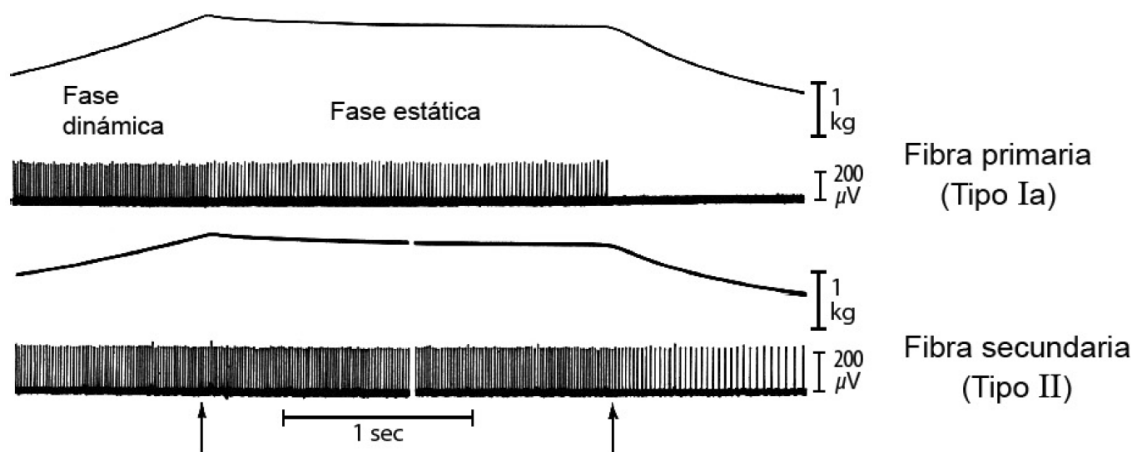


Figura 2. Ilustración de la actividad de una terminación primaria (registro superior) y una secundaria (registro inferior) que inervan el músculo sóleo desesferentado en un gato. Los registros se realizaron en fibras de la raíz dorsal. Se muestra la respuesta a un estímulo de estiramiento mantenido aplicado en rampa (el estiramiento del músculo se representa con el trazo continuo sobre los registros). Nótese el aumento de la frecuencia de descarga de la fibra primaria durante la rampa (fase dinámica), la disminución de la frecuencia que permanece constante durante el estiramiento mantenido (fase estática) y el silencio cuando finaliza el estiramiento. La descarga de la fibra secundaria (registro inferior) no se modifica durante la fase dinámica, aumenta ligeramente durante el estiramiento mantenido y no desaparece cuando finaliza el estiramiento. Las flechas indican el final de la rampa (izq.) y del estiramiento (dcha.); figura adaptada de Harvey y Matthews, 1961).

Las fibras de tipo *Ia* se diferencian funcionalmente de las de tipo *II* (ver Fig. 2) y de las fibras *Ib* (que inervan los órganos tendinosos de Golgi), porque presentan actividad en ráfaga durante la fase dinámica del estiramiento, una disminución transitoria de la frecuencia de descarga durante la fase estática y

un silencio cuando finaliza el estiramiento. La desaparición de la descarga al final del estiramiento, descrita ya en husos musculares de anfibios (ver Ottoson y Shetherd, 1971), es abolida por la intervención del sistema fusimotor en animales superiores, por lo que en mamíferos sólo se puede observar en animales desferentados (o anestesiados y paralizados). Otra característica específica de los axones primarios de tipo *Ia*, es su capacidad para responder a estiramientos efectuados a altas frecuencias (estímulos sinusoidales a 100 – 800 Hz), gracias a su comportamiento estático y dinámico (Harvey y Matthews, 1961; Matthews, 1981).

1.2.1.2.- Órganos tendinosos de Golgi.

Los órganos tendinosos de Golgi están dispuestos en serie con las fibras musculares extrafusales, en la inserción de estas con el tejido tendinoso. Se activan durante la contracción muscular señalando la tensión que soporta el tendón y constituyen un sistema de protección. Detectan la fuerza con la que se contrae el músculo, por lo que aportan información acerca del grado de contracción y contribuyen a la detección de la posición espacial. Los órganos tendinosos son abundantes aunque su número varía dependiendo del tipo muscular del que se trate y cada uno de ellos está unido a 10 – 25 fibras musculares extrafusales. Están inervados por axones aferentes mielinizados de tipo *Ib*, que presentan una velocidad de conducción rápida y propiedades complejas ya que se conectan a fibras de características morfológicas y funcionales muy distintas (de contracción lenta y resistentes a la fatiga, de contracción rápida y resistentes a la fatiga, y de contracción rápida y rápidamente fatigables), que se reclutan escalonadamente durante el proceso de la contracción muscular (Edström y Kugelberg, 1968).

La estructura de los órganos tendinosos está diseñada para detectar la tensión provocada por la contracción de las fibras musculares extrafusales y su ubicación, en las uniones miotendinosas o aponeuróticas (Swett y Eldred, 1960), les confiere una función de monitorización de la tensión generada durante la contracción muscular (Jami y Petit, 1976). Un órgano tendinoso típico (ver Fig. 3) está formado por un entramado de fibras de colágeno íntimamente unidas al tendón en uno de sus extremos (extremo tendinoso), recubierto por una cápsula y que, en el otro extremo, se une en serie a las fibras musculares extrafusales. Las fibras aferentes *Ib* se dividen en ramas amielínicas que se disponen entrecruzadas con las fibras de colágeno (Fig. 3, ampliación). Por fuera de la cápsula, el órgano tendinoso está rodeado por fibras musculares dispuestas en paralelo que se insertan en el extremo tendinoso o aponeurótico

(Horcholle-Bossavit *et al.*, 1990). Estudios realizados en receptores aislados (Fukami y Wilkinson, 1977) demostraron que el estímulo adecuado para activar el receptor es el estiramiento del haz de fibras de colágeno debido a la contracción del músculo, lo que provoca la deformación de las terminaciones sensoriales y por ende, cambios en la conductancia de sus membranas. Esto genera un potencial de receptor que se propaga hasta el lugar de generación del impulso donde se dispara un potencial de acción que se transmite a través de la fibra *Ib*. La contracción de las fibras musculares extrafusales *en serie* ejerce tensión sobre el órgano tendinoso al que están ancladas (Houk y Henneman, 1967); por el contrario, la contracción de las fibras en paralelo libera la tensión ejercida sobre el fascículo de fibras de colágeno y las terminaciones sensoriales, “descargando” el receptor.

Las fibras musculares dispuestas en serie con el órgano tendinoso pertenecen a unidades motoras diferentes y el receptor puede activarse con la contracción de sólo una de ellas (Houk y Henneman, 1967). Cada órgano tendinoso de los músculos de la pata del gato se activa por una media de 10 a 25 unidades motoras, pudiendo actuar la misma unidad sobre órganos tendinosos diferentes (Jami y Petit, 1976; Horcholle-Bossavit *et al.*, 1990).

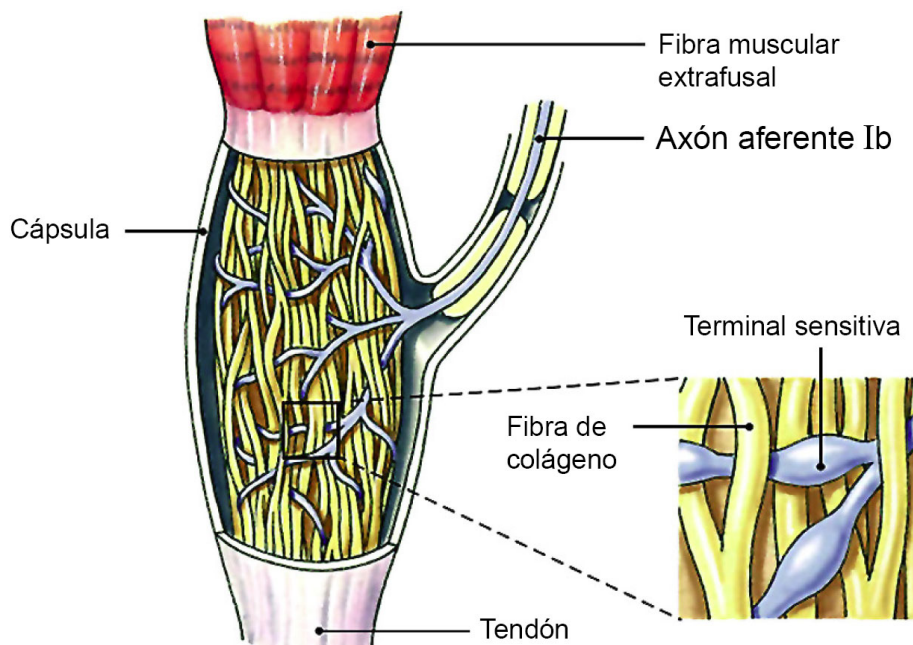


Figura 3. Ilustración de un órgano tendinoso de Golgi, formado por un entramado de fibras de colágeno, recubiertas por una cápsula de tejido conectivo, íntimamente unidas al tendón por su extremo tendinoso (extremo inferior). En el otro extremo se unen en serie a 10 – 25 fibras musculares extrafusales. El receptor está inervado por un axón de tipo *Ib* que se divide en ramas amielínicas entrecruzadas con las fibras de colágeno (detalle ampliado), que constituyen las terminales sensoriales del receptor (figura adaptada de Silverthorn, 2007).

1.2.2.- Receptores articulares.

Las articulaciones están recubiertas por cápsulas fibrosas de tejido conectivo, ligamentos y músculos. Incluidos en estas cápsulas y los tejidos circundantes se encuentran diferentes tipos de mecano-receptores articulares que se activan, preferentemente, en los extremos de la flexión o de la extensión o en posiciones cercanas a sus límites, y permanecen prácticamente silentes en posiciones intermedias (Burgess y Clark, 1969; Clark y Burgess, 1975; Millar, 1975; Tracey, 1979; Coleman *et al.*, 2003; Macefield, 2005). Los receptores articulares responden habitualmente tanto a la flexión como a la extensión y en más de un eje de rotación (Macefield, 2005). Aunque la mayoría de los receptores articulares son de adaptación lenta (Millar, 1973; Clark y Burgess, 1975; Tracey, 1979) las neuronas de los núcleos de las columnas dorsales que reciben aferencias articulares presentan descargas de adaptación rápida (Millar, 1979; Tracey, 1980). Parece, por tanto, que el cometido de los receptores articulares es informar de que se ha producido un movimiento, pero no determinar la posición de la articulación ni la velocidad a la que se ha realizado dicho movimiento. Este papel le corresponde a las fibras fusales aferentes, tanto primarias como secundarias, que hacen sinapsis en neuronas de adaptación muy lenta y permanecen activas en todo el rango de posiciones de la articulación (Rosén y Sjölund, 1973b; Surmeier y Towe, 1987).

Los receptores articulares presentan grandes semejanzas morfológicas y funcionales con algunos de los receptores musculares y cutáneos. En la figura 4 se muestra un esquema de la morfología y de la localización de los diferentes tipos de receptores articulares presentes en la articulación de la rodilla. Los receptores de tipo I son terminaciones en ramillete similares a los corpúsculos de Ruffini, que se localizan en la cápsula articular, ligamentos y periostio adyacente. Responden al estiramiento y adaptan con lentitud (Boyd, 1954; Freeman y Wyke, 1967). Los de tipo II se asemejan a los corpúsculos de Pacini y al igual que estos, adaptan rápidamente. Se localizan en la parte más externa de la cápsula fibrosa y en el periostio, cerca de la unión ligamentosa y articular (Boyd, 1954). Los receptores de tipo III recuerdan a los órganos tendinosos de Golgi, presentando una densa arborización en la terminación de las fibras sensitivas. Estas fibras son de adaptación lenta, se localizan en los ligamentos cercanos a la cápsula y presentan umbrales de activación elevados (Samuel, 1952; Andrew, 1954; Freeman y Wyke, 1967). Los tres tipos de receptores están inervados de forma independiente, aunque un mismo axón puede inervar

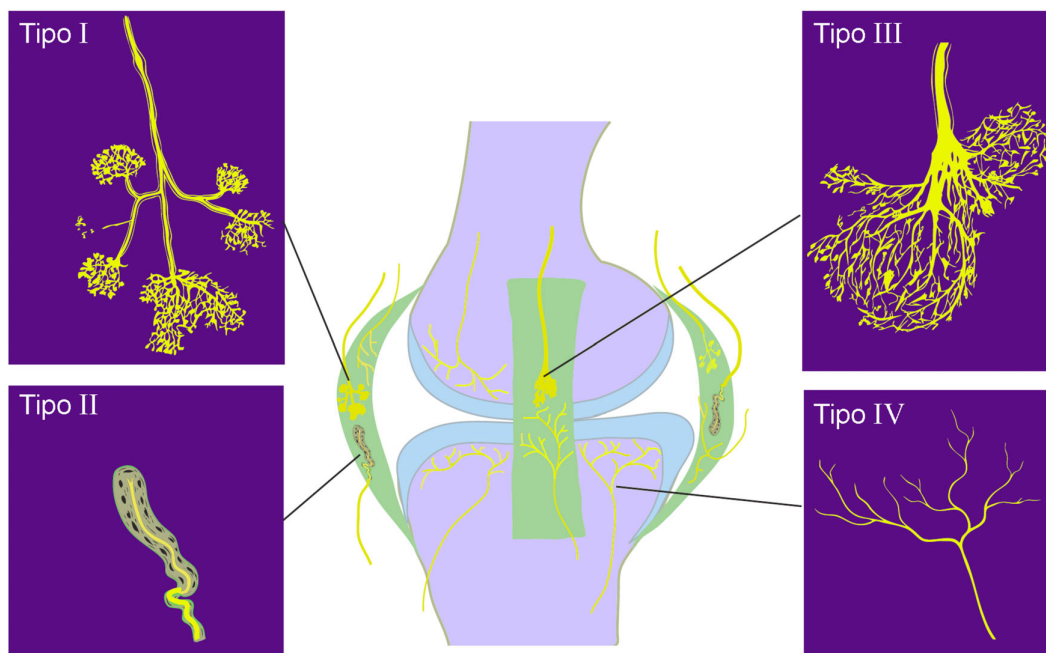


Figura 4. Ilustración de los cuatro tipos de receptores que inervan la articulación de la rodilla. Receptores tipo I, terminaciones en ramillete similares a los corpúsculos de Ruffini, se localizan en la cápsula articular. Tipo II, recuerdan a los corpúsculos de Pacini, aparecen en la cápsula fibrosa y el periostio. Tipo III, se asemejan a los órganos tendinosos de Golgi, se encuentran en los ligamentos cercanos a la cápsula. Tipo IV, terminaciones nerviosas libres, se distribuyen en la cápsula fibrosa y la adventicia de los vasos sanguíneos (figura adaptada de Brodal, 2010).

varios receptores del mismo tipo (McCloskey, 1978). Los receptores de tipo IV son terminaciones nerviosas libres de fibras delgadas que no están recubiertas de mielina, similares a las que se encuentran en la piel. Se localizan en la adventicia de los vasos sanguíneos y en la cápsula fibrosa de las articulaciones (Samuel, 1952).

1.2.3.- Receptores cutáneos.

En la piel se pueden encontrar varios tipos de receptores que se activan con estímulos de diferente naturaleza: táctiles, presión, nociceptivos, temperatura (calor y frío). Centrando nuestro interés en aquellos que están implicados en la detección de la posición de las articulaciones y el movimiento, destacaremos cuatro de estos mecanoreceptores que, como característica general, presentan un bajo umbral de activación y están inervados por axones de alta velocidad de conducción tipo *Abeta*. Los mecanoreceptores cutáneos de bajo umbral de activación presentan diferentes morfologías y localizaciones en las distintas capas de la piel, lo que determina sus características funcionales. Estos receptores se pueden clasificar como receptores de adaptación rápida (FA), aquellos que responden sólo al inicio y/o al final del estímulo (p. ej. al apoyar y al retirar un objeto en la piel), o de adaptación lenta (SA), que

permanecen activados mientras dure el estímulo. Se han descrito cuatro tipos de mecanorreceptores cutáneos de bajo umbral, dos de adaptación lenta: los discos de Merkel y los corpúsculos de Ruffini; y dos de adaptación rápida: los corpúsculos de Meissner y los corpúsculos de Pacini.

Los discos de Merkel (SAI) se localizan en la capa basal de la epidermis de la piel glabra y con pelo, y son especialmente abundantes en las partes distales de las extremidades. Presentan campos receptores muy pequeños (son los más discriminativos espacialmente) y adaptan lentamente, pudiendo mantenerse activos durante varios minutos en respuesta a estímulos persistentes. Los corpúsculos de Ruffini (SAII) se encuentran en la dermis de la piel glabra y con pelo. Presentan campos receptores grandes y se activan con el estiramiento de la piel generando respuestas que adaptan lentamente; por lo que pueden señalar la tensión mantenida e informar acerca de la magnitud y la dirección del estiramiento. Los corpúsculos de Meissner (FAI) aparecen sólo en la piel glabra, en las papilas de la dermis (p. ej. en las yemas de los dedos) inmediatamente por debajo de la epidermis. Responden ante la más mínima deformación de la superficie de la piel (son los de mayor sensibilidad o menor umbral). Estos receptores adaptan rápidamente y presentan campos receptores pequeños y muy bien definidos. Los corpúsculos de Pacini (FAII) se localizan entre la dermis y el tejido subcutáneo de la piel glabra y con pelo, presentan campos receptores grandes, responden con umbrales muy bajos a estímulos vibratorios de alta frecuencia (>100 Hz; con máxima sensibilidad a 250 – 300 Hz en el ser humano) y adaptan muy rápidamente.

Además de estos receptores encapsulados, en la piel también aparecen receptores no encapsulados de adaptación muy lenta y alto umbral de activación, que pueden activarse con estímulos cutáneos intensos. Estos receptores, denominados mecanorreceptores de tipo “C”, son terminaciones libres de fibras delgadas no mielinizadas que se distribuyen en la epidermis y la dermis. Los resultados de experimentos pioneros realizados en el gato y en el mono no aportaron una idea clara de la verdadera contribución de los mecanorreceptores cutáneos a la propiocepción, por lo que se consideró que la fuente más importante de información propioceptiva es la activación de los receptores fusales (Matthews y Stein, 1969; Gandevia y McCloskey, 1976; McCloskey *et al.*, 1983; Sturnieks *et al.*, 2007). Sin embargo, experimentos realizados en humanos (en articulaciones de los dedos, la muñeca, el codo o la rodilla) han puesto de manifiesto que la piel con pelo que recubre o que se encuentra cerca de las articulaciones, puede jugar un papel importante en la propiocepción a la hora de proporcionar información acerca de la posición de

una extremidad y de su movimiento, tanto en articulaciones distales como proximales (Edin y Johansson, 1995; Collins y Prochazka, 1996; Edin, 2001; Collins *et al.*, 2005). Se ha demostrado que los mecanorreceptores cutáneos de bajo umbral, de adaptación rápida o lenta y los mecanorreceptores de tipo C, responden al estiramiento manual de la piel en el ser humano, aunque son los de adaptación lenta los que codifican de manera más efectiva los aspectos estáticos y dinámicos de los movimientos de las articulaciones (Edin, 2001). Todavía persiste la controversia en cuanto a la contribución de los receptores cutáneos a la propiocepción, ya que experimentos recientes realizados en humanos desvelan que la estimulación de los corpúsculos de Pacini mediante vibración dificulta la detección del movimiento en las articulaciones distales (Weerakkody *et al.*, 2007 y 2009).

1.3.- Vías propioceptivas aferentes

Colaterales intramedulares y vías propioceptivas medulares

Los axones *Ia* que inervan las fibras intrafusales de los husos musculares y que proceden de los miembros superiores y de la parte alta del tronco (segmento T6 y superiores), entran en la médula por el asta dorsal y emiten colaterales intramedulares que contactan monosinápticamente con las motoneuronas *alfa* del asta ventral, en la lámina IX, estableciendo el reflejo miotático o de estiramiento. Otras colaterales descendentes hacen sinapsis en las láminas VI y VII (Fig. 5). Las fibras *Ia* suben por el fascículo *cuneatus* ipsilateral hasta el núcleo *cuneatus* principal y el núcleo *cuneatus* externo o accesorio.

En la figura 5 se muestra la trayectoria que siguen en la médula las colaterales de un axón *Ia* de un gato que, en este caso, inerva la pata trasera (el gastrocnemio) por lo que la rama ascendente se localiza en el fascículo *gracilis*. Las fibras fusales de tipo *II* hacen sinapsis en las láminas IV, V, VI, VII y IX, mientras que las fibras *Ib* procedentes de los órganos tendinosos de Golgi sinaptan en las láminas V, VI, VII, VIII y IX (Mense, 1990).

Una vez en la médula, la información propioceptiva asciende a través de dos vías bien diferenciadas: una formada por las columnas dorsales, la vía propioceptiva *consciente* y la otra a través de los tractos cerebelosos, la vía *inconsciente*.

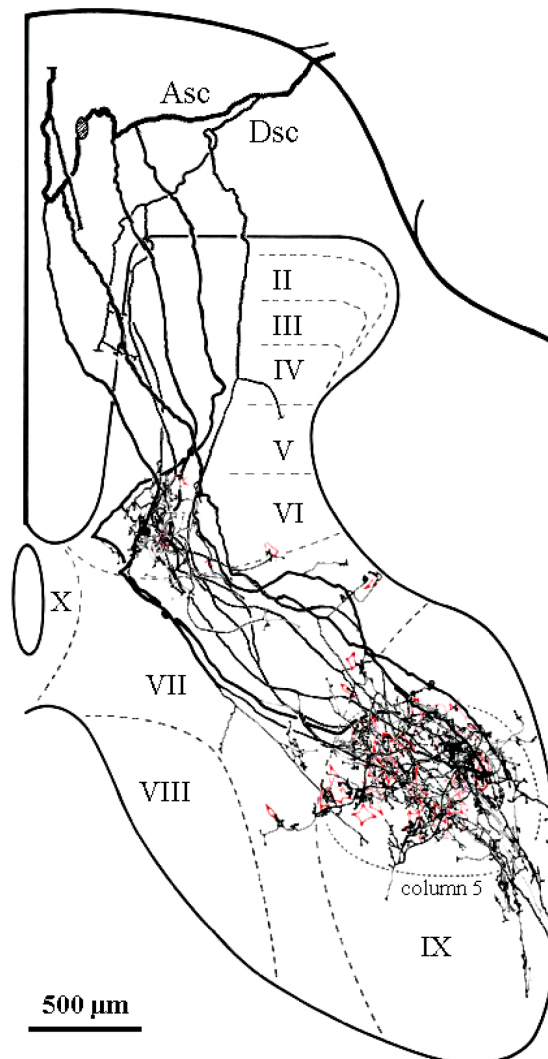
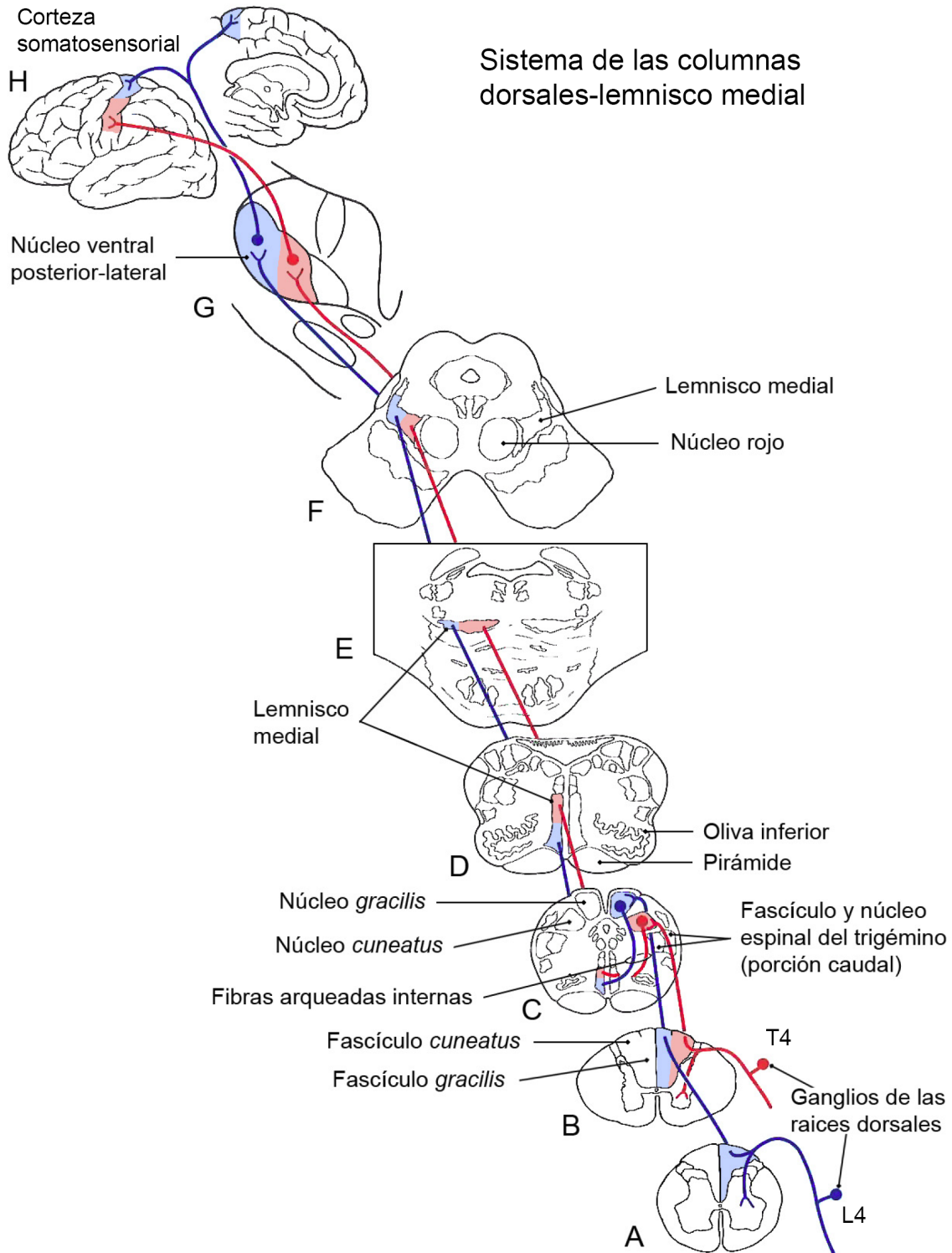


Figura 5. Trayectoria de un axón *Ia* de un gato tras su entrada en la médula a través de la raíz dorsal. Nótese que el axón asciende a través del fascículo *gracilis* ya que proviene de la pata trasera (gastrocnemio medial). Las colaterales descendentes que se dirigen al asta ventral hacen sinapsis en las láminas VI, VII y IX. Asc, rama ascendente; Dsc, rama descendente. El círculo rayado de la rama ascendente indica el punto de inyección del trazador (figura adaptada de Ishizuka *et al.*, 1979).

1.3.1.- Vía propioceptiva consciente: Sistema de las columnas dorsales-lemnisco medial.

Las fibras propioceptivas que alcanzan el núcleo *cuneatus* principal siguen las columnas dorsales y hacen sinapsis, preferentemente, en su región medio-basal (desde el óbex hasta unos 4.0 mm posterior) y rostro-basal (desde el óbex hasta unos 4.0 mm por delante). Las neuronas propioceptivas del núcleo no presentan una organización somatotópica tan bien definida como la que

caracteriza a las cutáneas. Las células cuneotalámicas de relevo o de proyección que reciben aferencias propioceptivas se encuentran fundamentalmente en la región medio-ventral del núcleo. Los axones de estas células junto con fibras cutáneas y de presión (fibras arqueadas internas) (Fig.



6C; rojo), cruzan la línea media y se integran en el lemnisco medial contralateral (ML) (Fig. 6C, D, E, F) ocupando su parte medial y ascienden hasta el tálamo ventral-posterior-lateral (VPL) (Fig. 6G), constituyendo la vía propioceptiva clásicamente considerada consciente.

Las neuronas propioceptivas tálamocorticales del VPL envían sus axones hacia la corteza a través de la cápsula interna y sus terminales hacen sinapsis en células de las áreas 3a y 2 (Fig. 6H) que, a su vez, envían información al área 4 *gamma* o MI, la corteza motora primaria, entre otros lugares (Zarzecki *et al.*, 1978).

Las fibras córticofugales procedentes de las áreas 4 *gamma* y 3a descienden por el tracto piramidal (Brech *et al.*, 1977). Algunos de estos axones se dirigen directamente al bulbo raquídeo recibiendo el nombre de fibras córticoreticulares. Otros axones envían colaterales al bulbo en su camino hacia la médula espinal, son las fibras córticoespinales. Ambos tipos de fibras córticofugales descendentes intervienen en el procesamiento de la información ascendente a nivel de los núcleos de las columnas dorsales.

1.3.2.- Vía propioceptiva cuneocerebelosa.

Las fibras que alcanzan el cerebelo con información procedente de los receptores profundos (musculares y articulares) constituyen las vías propioceptivas clásicamente consideradas inconscientes.

Las aferencias propioceptivas primarias que llegan al núcleo *cuneatus* accesorio (o externo) después de penetrar en la médula entre los segmentos C2 y T5 (Fig. 7B), sinaptan con células que envían sus axones al lóbulo anterior ipsilateral del cerebelo (Fig. 7G). Estas fibras forman el tracto cuneocerebeloso (Fig. 7; rojo) que llega al cerebelo a través del pedúnculo cerebeloso inferior (Fig. 7D). Algunas fibras aferentes, procedentes de la cabeza y de la pata

« **Figura 6.** Esquema del sistema de las columnas dorsales-lemnisco medial. Las ramas ascendentes de las aferencias propioceptivas que entran en la médula a nivel del segmento T6 y superiores proceden del cuello, la pata delantera y la parte superior del tronco (rojo) y ascienden a través del fascículo *cuneatus* (**B**). La primera sinapsis de la vía tiene lugar a nivel del bulbo caudal, en el núcleo *cuneatus* (**C**). Los axones de las neuronas secundarias decusan a nivel del óbex (**C**) y ascienden contralateralmente formando el lemnisco medial (**D, E, F**). Las terminales de estas fibras sinaptan sobre neuronas talámicas del núcleo ventral posterior-lateral (**G**). Los axones de las neuronas tálamocorticales ascienden a través de la cápsula interna para hacer sinapsis sobre neuronas del área 3a y, en menor medida, el área 2 de la corteza somatosensorial (**H**). A su vez, estas neuronas corticales proyectan hacia la corteza motora primaria (MI o 4 *gamma*) (**H**). Las aferencias que penetran en la médula en niveles inferiores a T6 (azul) (**A**) siguen una vía análoga a través del fascículo (**B**) y el núcleo *gracilis* (**C**); (figura adaptada de Haines, 2009).

delantera que penetran en la médula entre los segmentos C4 y C8 (Fig. 7B), llegan al lóbulo anterior ipsilateral a través del tracto espinocerebeloso rostral (Fig. 7; verde). Las fibras procedentes de la extremidad posterior y del tronco, hacen sinapsis en la médula espinal a lo largo de la columna de Clarke (C8 – L2) (Fig. 7A). Los axones de las células postsinápticas forman el tracto espinocerebeloso dorsal (Fig. 7; azul), que alcanza el vermis ipsilateral por el pedúnculo cerebeloso inferior (Fig. 7G). Otras aferencias propioceptivas que

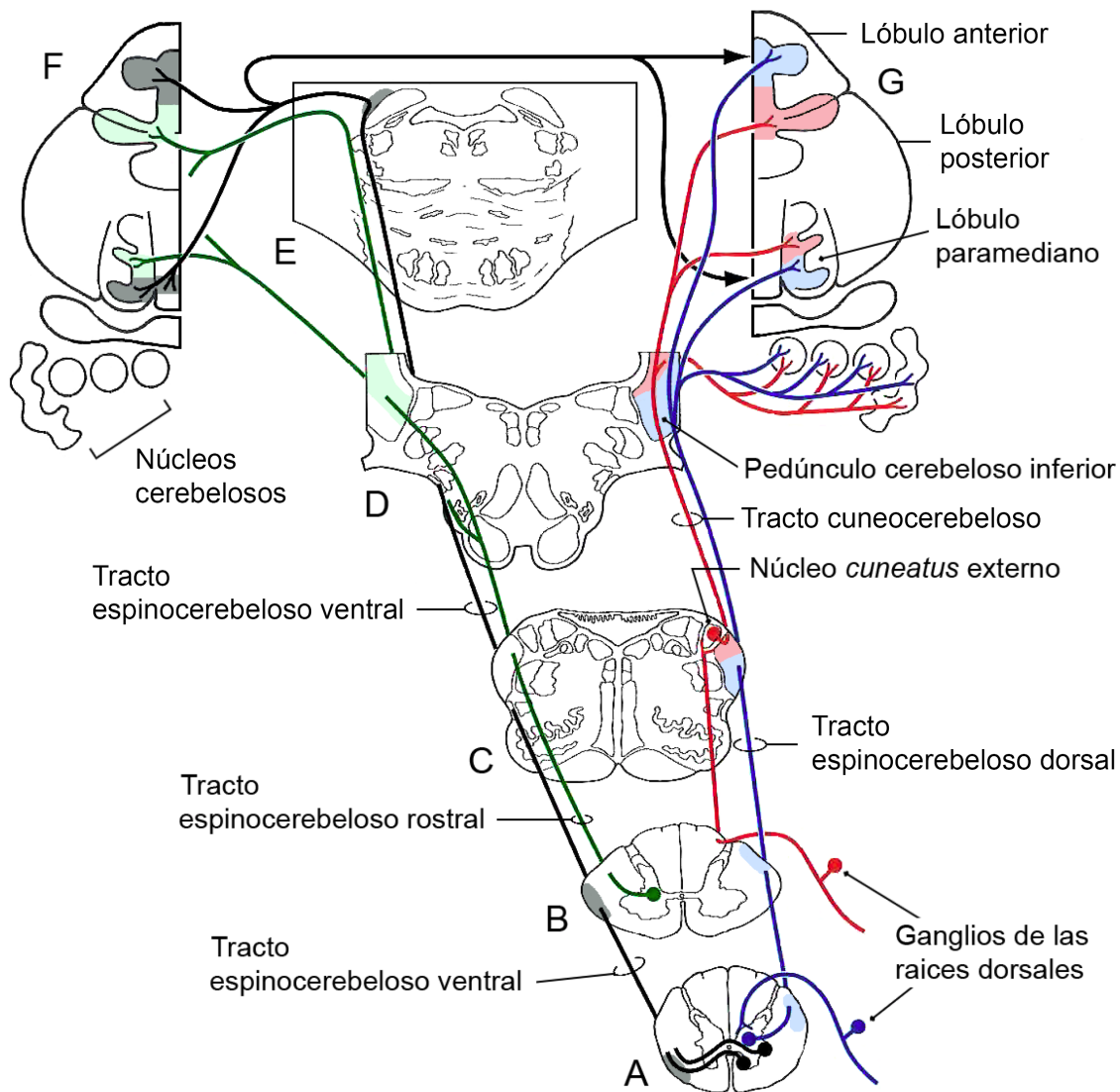


Figura 7. Esquema de las vías cerebelosas propioceptivas: Tracto espinocerebeloso ventral (negro), formado por los axones contralaterales de neuronas secundarias, situadas a nivel lumbar y sacro, que reciben aferencias de la parte inferior del tronco y la pata trasera. Tracto espinocerebeloso rostral (verde), fibras procedentes de la cabeza y la pata delantera que penetran en la médula por los segmentos C4 – C8. Tracto cuneocerebeloso (rojo), formado por aferencias que entran en la médula entre los segmentos C2 y T5. Tracto espinocerebeloso dorsal (azul), fibras procedentes de la extremidad posterior y del tronco (C8 – L2; figura adaptada de Haines, 2009).

inervan la parte inferior del tronco y de la pata trasera hacen sinapsis a nivel de la médula lumbar y sacra (Fig. 7A). En este caso, los axones de las neuronas secundarias cruzan la línea media y ascienden contralateralmente formando el tracto espinocerebeloso ventral (Fig. 7; negro), que entra en el cerebelo a través del pedúnculo cerebeloso superior (Fig. 7E) que vuelve a cruzar la línea media para alcanzar el vermis ipsilateral (Fig. 7G).

1.4.- Los núcleos de las columnas dorsales (DCN)

Núcleos cuneatus principal y gracilis

Una vez activados los propioceptores, la información asciende por la médula hasta los DCN. En el gato los DCN (Fig. 8) no son simples lugares de relevo sino que realizan procesos fundamentales de procesamiento y de filtrado de la información aferente recibida. En las neuronas de estos núcleos hacen sinapsis las ramas de las fibras aferentes primarias que viajan por las columnas dorsales (DC), dos fascículos de axones (*cuneatus* y *gracilis*) que ascienden a lo largo de la médula ocupando una posición dorso-medial. Estos axones son los procesos centrales de las neuronas pseudomonopolares de los ganglios de las raíces dorsales cuyas ramas distales forman los nervios periféricos que inervan los receptores. Los axones que transportan información proveniente de la mitad superior del cuerpo (segmento T6 y superiores) ascienden a través del fascículo *cuneatus*, mientras que los de la mitad inferior alcanzan el núcleo *gracilis* a través del fascículo homónimo.

Las fibras de ambos fascículos se distribuyen somatotópicamente (Millar y Basbaum, 1975; Dykes *et al.*, 1982; Cheema *et al.*, 1983), siguiendo una distribución dorsoventral y mediolateral. Especialmente en el caso de las aferencias cutáneas, los axones que transportan información de los campos receptores más distales aparecen en las posiciones más dorsales y a medida que los campos receptores son más proximales, sus fibras aferentes terminan en posiciones más ventrales. Del mismo modo, las fibras aferentes de los campos anteriores se localizan en la región lateral del fascículo y las de los posteriores en la medial (Millar y Basbaum, 1975). Esta organización somatotópica la mantienen en gran medida las neuronas de relevo de los DCN, lo que hace que estos núcleos se caractericen por presentar un alto grado de resolución espacial para la información táctil y propioceptiva. En el caso de las neuronas propioceptivas sólo se aprecia cierta organización topográfica en la base de la región medial, en donde se localizan las neuronas cuneolemniscales (Jasmin *et al.*, 1985). Además, los DCN reciben aferencias de numerosas

regiones del tronco del encéfalo como la formación reticular y los núcleos rojo, trigeminal, vestibular y coclear (Weinberg y Rustioni, 1989).

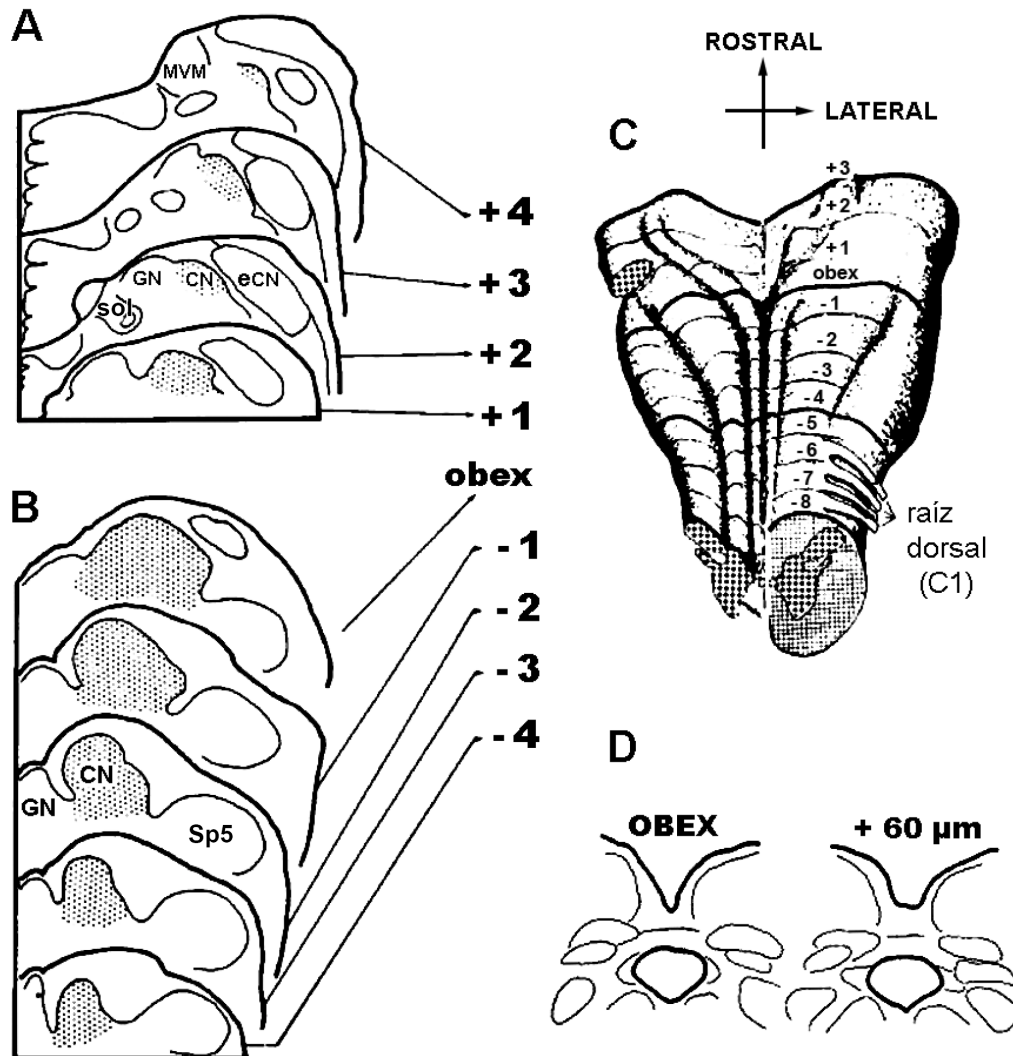


Figura 8. Núcleos de las columnas dorsales del gato. Esquemas de cortes coronales secuenciales de la región anterior (**A**) y medial (**B**) de los núcleos de las columnas dorsales, en los que el núcleo *cuneatus* (CN) aparece resaltado con puntos. **A:** Secciones pertenecientes al núcleo *cuneatus* rostral, 1.0 – 4.0 mm rostrales al óbex. **B:** Secciones correspondientes al núcleo *cuneatus* medial, desde el óbex hasta 4.0 mm en sentido caudal. **C:** Ilustración de la superficie del bulbo raquídeo caudal y de la raíz dorsal en el nivel cervical 1 (C1). **D:** Detalle de un corte realizado a la altura del óbex y otro a 60 μm en sentido rostral. Abreviaturas: CN, núcleo *cuneatus*; eCN, núcleo *cuneatus* externo; GN, núcleo *gracilis*; MVM, núcleo vestibular medial; sol, núcleo del tracto solitario; Sp5, núcleo espinal caudal del trigémino (figura adaptada de Cheema *et al.*, 1983).

La mayoría de los autores coinciden en señalar que el núcleo *cuneatus* externo (que recibe aferencias propioceptivas de la mitad anterior del cuerpo) y el núcleo Z (al que llegan las aferencias propioceptivas de la mitad posterior), no forman parte de los DCN, a pesar de que son dos estructuras adyacentes a

las regiones rostrales del núcleo *cuneatus* y del *gracilis*, respectivamente, y de que mantienen con estas grandes similitudes estructurales y estrechas relaciones funcionales (Berkley *et al.*, 1986).

El núcleo *cuneatus* externo o accesorio (eCN) (Fig. 8A) es una estructura adyacente al borde lateral de la parte rostral del núcleo *cuneatus* que se extiende desde el óbex hasta unos 5.0 mm anterior. Presenta células de tamaño variable que aparecen entremezcladas a lo largo de toda la estructura. Estas células están organizadas somatotópicamente y reciben aferencias propioceptivas ipsilaterales procedentes de la cabeza, del cuello, de la pata delantera y de la parte superior del tronco (segmentos C2 – T5) (Rosén, 1969a,b; Millar y Basbaum, 1975; Dykes *et al.*, 1982; Nyberg y Blomqvist, 1984; Jasmin *et al.*, 1985; Jasmin y Courville, 1987b). Sus células proyectan al lóbulo anterior ipsilateral del cerebelo, formando el componente propioceptivo inconsciente del tracto cuneocerebeloso (Cooke *et al.*, 1971a,b; Jasmin y Courville, 1987a).

1.4.1.- Núcleo *cuneatus* principal o de *Burdach* (CN).

Ocupa una posición inmediatamente lateral al núcleo *gracilis* (descrito más adelante) en la parte dorso-caudal del bulbo raquídeo (Fig. 8) y hasta él llegan las aferencias propioceptivas, cutáneas y de presión de la mitad superior del cuerpo. En el gato presenta un volumen medio de 8.4 mm³ con una media de 76000 neuronas (Heino y Westman, 1991). En el CN podemos distinguir dos zonas citoarquitectónicas diferentes. En la parte dorsal las neuronas están agrupadas formando agregados, nidos o *clusters*, rodeados por células más pequeñas y una gran cantidad de fibras, mientras que en la parte ventral se distingue una zona reticular con neuronas de morfología radial. Teniendo en cuenta las características morfológicas y fisiológicas de las neuronas que lo componen y tomando como referencia el óbex (Fig. 8D), punto en el que el fascículo *gracilis* comienza a alejarse de la línea media (Cheema *et al.*, 1983; Berkley *et al.*, 1986; Heino y Westman, 1991), el CN se divide en tres regiones: rostral, medial y caudal que serán descritas con detalle más adelante. Esta división está fundamentada en numerosos estudios anatómicos y fisiológicos que se centraron sobre todo en la región medial de los DCN y especialmente en su parte dorsal (Gordon y Paine, 1960; Kuypers y Tuerk, 1964; Keller y Hand, 1970; Blomqvist *et al.*, 1978; Cheema *et al.*, 1983; Berkley *et al.*, 1986; Fyffe *et al.*, 1986b).

En el CN se distinguen dos tipos de neuronas, las células de relevo o de proyección, que envían su axón a diferentes estructuras situadas en el

diencefalo y/o el mesencefalo, y las células de circuito local o interneuronas, que no proyectan a otras estructuras sino que se relacionan funcionalmente con otras neuronas del propio núcleo (Andersen *et al.*, 1964b). Los dos tipos celulares desempeñan funciones distintas; las neuronas de proyección actúan como transmisoras de la información aferente localmente procesada hacia estructuras situadas a niveles superiores, mientras que las interneuronas son las responsables de la modulación y filtrado de la información. Las células de relevo suponen el 89% de las neuronas del CN medio-dorsal del gato, mientras que las células de circuito local representan en torno al 11% (Rustioni *et al.*, 1984). También en el gato se ha descrito la presencia de un 25% de neuronas GABAérgicas en el CN principal, un porcentaje similar en el núcleo *gracilis* (28%) y la ausencia total de este tipo celular en el eCN. Sin embargo, se han detectado botones sinápticos con GABA en los tres núcleos (Heino y Westman, 1991).

1.4.2.- Núcleo *gracilis* o de Goll (GN).

El núcleo *gracilis* ocupa una posición paramedial en la región dorso-caudal del bulbo raquídeo. Se encuentra ubicado entre la línea media y el CN (Fig. 8A, B) y, al igual que este, se divide en tres regiones: rostral (rGN), medial (mGN) y caudal (cGN). En el mGN se aprecian con mayor nitidez los agregados celulares de la parte dorsal, aunque son menos evidentes que los del CN medial. En el rGN se incluye un área posterior al óbex (hasta 2.0 mm) en la que el tamaño y la distribución de las células son más homogéneos que en el resto de la subdivisión rostral, por lo que recibe el nombre de zona de transición. Hasta el GN llegan aferencias procedentes de la mitad posterior del cuerpo (segmento T7 e inferiores) y de las extremidades posteriores, que mayoritariamente son de naturaleza cutánea y también se pueden encontrar algunas propioceptivas (Millar y Basbaum, 1975).

1.5.- Características estructurales y morfológicas de las tres regiones del núcleo *cuneatus* principal

Descripción de las regiones rostral, medial y caudal. Aferencias primarias, aferencias corticales y eferencias

La estructura y la morfología del CN han sido estudiadas en numerosas especies (p. ej. en rata, mapache, gato, mono) y salvo pequeñas peculiaridades, las características generales se mantienen a lo largo de la filogenia. Una de ellas es la diferenciación en dos áreas citoarquitectónicas, la

zona de agregados y la base reticular, fundamentada en criterios anatómicos y electrofisiológicos. Esta división puede estar más o menos marcada dependiendo de la especie estudiada y es particularmente evidente en el caso del gato (Berkley *et al.*, 1980; Cheema *et al.*, 1983; Rustioni y Weinberg, 1989).

1.5.1.- Segmentación rostro-caudal del núcleo *cuneatus* principal.

1.5.1.1.- *Núcleo cuneatus rostral (rCN).*

En el gato se extiende desde 0.5 a 4.0 mm por delante del óbex (Fig. 8A). Está flanqueado en su borde lateral por el eCN y en el borde medial, desde su región más caudal hasta la más anterior, por el rGN y el núcleo Z. En su interior alberga unas 7000 neuronas (Heino y Westman, 1991) que a medida que la estructura alcanza posiciones más rostrales, van perdiendo la organización en agregados (característica de la región medial) y adoptan una distribución reticular, ocupando posiciones cada vez más superficiales. En el rCN se pueden encontrar células de diferente morfología, siendo las más abundantes las triangulares, multipolares y fusiformes, todas con dendritas radiales, es decir, largas y poco ramificadas. Algunas de estas neuronas son glicinérgicas y de pequeño tamaño por lo que algunos autores han sugerido que podrían ser interneuronas (Kuypers y Tuerk, 1964; Keller y Hand, 1970; Ellis y Rustioni, 1981; Heino y Westman, 1991; Lue *et al.*, 1997). Entre las neuronas radiales, sobre todo en las zonas de interfase con el CN medial, se observan células redondas de aspecto similar a las de la zona de los agregados, que desaparecen por completo en las áreas más rostrales ocupadas exclusivamente por neuronas de morfología radial o poligonales (Kuypers y Tuerk, 1964; Berkley *et al.*, 1986; Fyffe *et al.*, 1986a). La mayoría de las aferencias primarias que llegan al rCN son de origen muscular y articular, aunque también alcanzan esta región aferencias de origen cutáneo que se localizan preferentemente en su extremo caudal (Dykes *et al.*, 1982). Hasta el rCN también llegan aferencias corticales que hacen sinapsis en las neuronas radiales (Kuypers y Tuerk, 1964; Weisberg y Rustioni, 1979). Las células del rCN no presentan la organización somatotópica característica de la región medial del núcleo (Nyberg y Blomqvist, 1982; Surmeier y Towe, 1987).

1.5.1.2.- *Núcleo cuneatus medial (mCN).*

El mCN del gato está delimitado en el extremo anterior por el óbex y abarca hasta 4.0 mm en sentido caudal. Los márgenes del núcleo están acotados en el borde medial por el mGN y en el lateral por el núcleo espinal caudal del trigémino (Sp5) (Fig. 8B).

El mCN es la región del CN que presenta una mayor densidad celular con unas 59000 neuronas (Heino y Westman, 1991), entre las que podemos distinguir dos tipos celulares diferentes: neuronas glutamatérgicas que proyectan al ML (células cuneolemniscales, CL) y neuronas inhibitorias de circuito local (células no cuneolemniscales, nCL) (Barbaresi *et al.*, 1986; Berkley *et al.*, 1986; Rustioni y Weinberg, 1989; Heino y Westman, 1991), distribuidas en dos áreas que presentan una citoarquitectura diferente. La parte dorsal del núcleo (mdCN) está constituida, mayoritariamente, por células redondas con dendritas cortas muy ramificadas, agrupadas en agregados (*clusters*) rodeados por células de menor calibre (supuestas interneuronas) y fascículos de fibras que se dirigen a estructuras superiores. En la periferia de la zona de agregados, rodeándolos o incluso entre ellos, aparecen algunas células poligonales (Fyffe *et al.*, 1986a).

En la parte ventral (mvCN) aparece un área, la “base”, en la que las células adoptan una distribución reticular (Kuypers y Tuerk, 1964; Nyberg y Blomqvist, 1982; Cheema *et al.*, 1983; Berkley *et al.*, 1986). Estas neuronas son de menor tamaño que las de la zona de agregados y presentan morfología triangular, multipolar o fusiforme, con largas dendritas radiales. Cabe destacar que las características morfológicas de estas células son muy similares a las de las neuronas radiales del rCN. Además, al igual que aquellas, reciben aferencias primarias de naturaleza propioceptiva en su mayoría, pero también articular, y gran cantidad de aferencias corticales a través del tracto piramidal. Por el contrario, las neuronas redondas de los agregados reciben, específicamente, aferencias cutáneas (Kuypers y Tuerk, 1964; Jasmin *et al.*, 1985; Fyffe *et al.*, 1986b) y muchas menos fibras corticales piramidales (Weisberg y Rustioni, 1979; Rustioni y Hayes, 1981; Cheema *et al.*, 1983).

1.5.1.3.- Núcleo *cuneatus* caudal (cCN).

El cCN del gato se extiende desde los 4.0 a los 8.0 mm caudales al óbex (Fig. 8C). Cuenta con unas 10000 neuronas (Heino y Westman, 1991), organizadas en su parte rostral en agregados que no están tan bien definidos hacia el extremo caudal, por lo que en general, presenta una apariencia más reticular que el mCN. La mayoría de sus células son redondas y de tamaño medio, aunque se pueden encontrar algunas triangulares, fusiformes y multipolares, especialmente en la parte ventral y más caudal. Como en el mCN, las neuronas multipolares no están organizadas en agregados y presentan dendritas largas y poco ramificadas (Kuypers y Tuerk, 1964; Berkley *et al.*, 1986; Heino y Westman, 1991). Las aferencias más abundantes proceden de

receptores de tipo Pacini (Dykes *et al.*, 1982), pero también se pueden encontrar algunas entradas propioceptivas (Rosén, 1969b; Nyberg y Blomqvist, 1982, 1984).

1.5.2.- Aferencias primarias al núcleo *cuneatus* principal.

Las aferencias primarias que llegan al CN principal son de naturaleza cutánea y propioceptiva. Las colaterales de las fibras aferentes entran en el núcleo por la parte dorsal y lateral. A medida que van descendiendo se desplazan ligeramente en dirección anterior, realizando contactos sinápticos en diferentes tipos celulares a lo largo de toda la estructura (Fig. 9). Sin embargo, las sinapsis no se distribuyen homogéneamente sino que aparecen ordenadas en las tres regiones que componen el núcleo dependiendo de las características de la información que transmitan (Fyffe *et al.*, 1986a).

1.5.2.1.- *Núcleo cuneatus rostral.*

Las aferencias más abundantes en el rCN son de naturaleza propioceptiva, tanto musculares como articulares. Preferentemente, hacen sinapsis en las neuronas de la parte ventral (rvCN), aunque también sobre las células multipolares que se distribuyen de forma reticular pero más homogénea, a lo largo de todo el núcleo (Dykes *et al.*, 1982; Nyberg y Blomqvist, 1982, 1984; Jasmin *et al.*, 1985). En esta región, las entradas cutáneas son mucho menos abundantes que las profundas y hacen sinapsis en las neuronas redondas que aparecen entremezcladas con las células propioceptivas. Las células activadas por aferencias cutáneas son más numerosas en la parte caudal, la más próxima al óbex, desapareciendo por completo hacia el extremo rostral.

1.5.2.2.- *Núcleo cuneatus medial.*

Las fibras que llegan al mCN se organizan siguiendo una distribución funcional a lo largo de las dos áreas citoarquitectónicas que componen esta subdivisión del núcleo. Las neuronas del mCN que reciben aferencias propioceptivas se localizan, mayoritariamente, en el mvCN y aparecen en mayor densidad en torno al óbex y hasta 3.0 mm en sentido caudal (Millar y Basbaum, 1975; Surmeier y Towe, 1987). Las colaterales de las fibras aferentes primarias llegan a la zona reticular del mvCN, la base (Fig. 9), donde hacen sinapsis en las neuronas multipolares con dendritas radiales (Rosén, 1969a,b; Millar y Basbaum, 1975; Dykes *et al.*, 1982; Nyberg y Blomqvist, 1982, 1984; Jasmin *et al.*, 1985; Fyffe *et al.*, 1986a; Surmeier y Towe, 1987). En su camino hacia la parte ventral, las colaterales presentan un número reducido de terminales (Fig. 9) que hacen sinapsis en las neuronas poligonales que

aparecen en la periferia de la zona de agregados (Fyffe *et al.*, 1986a). La mayoría de las neuronas propioceptivas de la base del mCN proyectan al tálamo contralateral a través del ML (Rosén y Sjölund, 1973a,b; Berkley *et al.*, 1980).

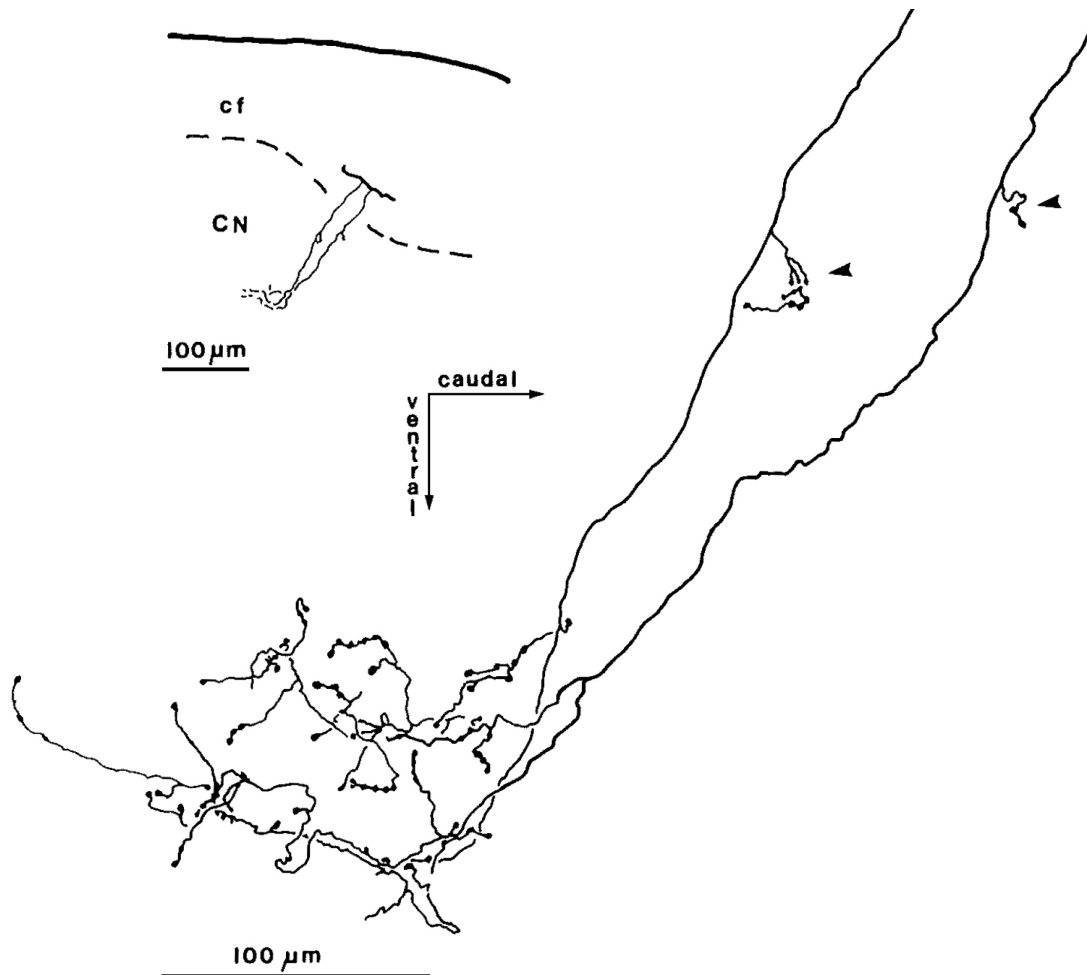


Figura 9. Dos colaterales de una fibra *Ia* que asciende a través del fascículo *cuneatus* (cf), reconstruidas en el plano parasagital, que se muestran a bajo (inserto) y gran aumento. Ambas colaterales entran en el núcleo *cuneatus* (CN) desplazándose en sentido rostral y ventral, y presentan la mayoría de sus terminales en la parte ventral del núcleo. Las arborizaciones de las dos colaterales se solapan en esta región. Nótese también que algunas terminales se localizan cerca del borde dorsal del núcleo (señaladas con puntas de flecha). Calibración: 100 µm (figura y texto tomados de Fyffe *et al.*, 1986a).

Las aferencias cutáneas son muy abundantes en el mCN y llegan exclusivamente a la zona de los agregados, en el mdCN, donde hacen sinapsis en las células redondas con dendritas cortas y muy ramificadas (Dykes *et al.*, 1982; Nyberg y Blomqvist, 1982; Jasmin *et al.*, 1985; Fyffe *et al.*, 1986a). Las neuronas activadas por aferencias cutáneas presentan una organización

somatotópica muy precisa, por el contrario, en la base del mCN se observa una superposición de aferencias que provienen de diferentes músculos (Nyberg y Blomqvist, 1984). Esto podría indicar un alto grado de convergencia pero, en contra de lo que cabría esperar, la mayoría de las neuronas cuneotalámicas activadas por aferencias musculares responden a la estimulación de un único músculo, lo que demuestra que presentan una gran especificidad espacial (Rosén, 1969b; Rosén y Sjölund, 1973b) que se mantiene, al menos en parte, a nivel talámico (Rosén, 1969c) y cortical (Rosén y Asanuma, 1973).

1.5.2.3.- *Núcleo cuneatus caudal.*

Las aferencias que llegan al cCN son, fundamentalmente, de origen cutáneo y las más abundantes provienen de receptores de tipo Pacini distribuidos por todas las partes del cuerpo a excepción de la cara. La parte dorsal del cCN es la que presenta una mayor concentración de aferencias de esta modalidad en todo el CN principal y hay que destacar que, por el contrario, son muy escasas en el rCN (Dykes *et al.*, 1982). Las fibras primarias hacen sinapsis en las células redondas que aparecen en la parte dorsal, agrupadas en agregados, aunque esta disposición se va haciendo menos evidente hacia el extremo caudal del núcleo. Hasta el cCN también llegan algunas aferencias propioceptivas, más concretamente desde receptores musculares de la garra en felinos y roedores. Una vez más, las neuronas postsinápticas activadas por aferencias profundas presentan morfología multipolar y se localizan en la parte ventral y más caudal del núcleo (Rosén, 1969b; Nyberg y Blomqvist, 1982, 1984).

1.5.3.- Aferencias corticales al núcleo *cuneatus* principal.

La información que parte del mCN se dirige al tálamo contralateral y en último término, alcanza la corteza somatosensorial primaria en donde continúa su procesamiento. Numerosos estudios realizados en el gato demuestran que las fibras córticofugales procedentes de las cortezas motora y somatosensorial primaria modulan las aferencias somatosensoriales ascendentes a nivel de los DCN (Towe y Jabbur, 1961; Jabbur y Towe, 1961; Levitt *et al.*, 1964; Canedo *et al.*, 1998, 2000; Mariño *et al.*, 1999; Canedo y Aguilar, 2000; Aguilar *et al.*, 2003). Estas aferencias corticales están altamente organizadas, tanto somatotópica como funcionalmente. Las áreas 4 (corteza motora primaria) y 3a (propioceptiva) proyectan a regiones de los DCN relacionadas con la propiocepción, mientras que el área 3b (cutánea) envía sus axones casi exclusivamente a la zona de agregados del núcleo (Cheema *et al.*, 1983, 1985).

La influencia cortical sobre las neuronas del CN se ejerce a través de fibras córticofugales que pueden seguir dos rutas, una excitatoria, que desciende a través del tracto piramidal y una inhibitoria, constituida por fibras piramidales y extrapiramidales (Towe y Jabbur, 1961; Jabbur y Towe, 1961; Martínez *et al.*, 1995; Aguilar *et al.*, 2003). Las fibras córticofugales tienen su origen en la lámina V cortical, desde donde descienden por el tracto piramidal y cruzan la línea media en la decusación piramidal (Weisberg y Rustioni, 1979; Cheema *et al.*, 1983; Martínez *et al.*, 1995; Canedo, 1997) para alcanzar el CN principal, en donde su distribución espacial está estrechamente relacionada con las características morfológicas de las neuronas que ocupan las diferentes regiones del núcleo. Tanto en el gato como en el mono, algunas de las fibras corticales que llegan a los DCN son colaterales de los axones de células córticoespinales, pero la mayoría proviene de células piramidales que no proyectan a la médula y reciben el nombre de córticoreticulares o córticobulbares (Martínez *et al.*, 1995). Las fibras piramidales llegan en mayor número al rCN y a la parte ventral del mCN y del cCN, a aquellas áreas en las que las neuronas tienen forma triangular, multipolar o fusiforme, y presentan dendritas radiales (Kuypers y Tuerk, 1964; Rosén, 1969a; Weisberg y Rustioni, 1979). Estas células se localizan en la zona de la base y algunas en la periferia de los agregados del mCN, distribuidas de forma más homogénea a lo largo de todo el rCN y en la parte más caudal y ventral del cCN. Precisamente estas áreas son las que reciben las aferencias primarias de origen propioceptivo procedentes de las patas delanteras en los cuadrúpedos. Cabe también señalar, que las neuronas redondas de los agregados apenas reciben aferencias piramidales (Kuypers y Tuerk, 1964).

1.5.4.- Aferencias del núcleo *cuneatus* principal.

La mayor parte de las proyecciones del CN parten del mCN, y a través del ML contralateral se dirigen al VPL (ver Fig. 6; esquema general de la vía), en donde la información somatosensorial mantiene la organización somatotópica ya observada en los DCN. La zona de proyección de las aferencias musculares del grupo I que provienen de la pata delantera contralateral, ocupa la parte dorso-medio-rostral del VPL (Andersson *et al.*, 1966; Mallart, 1968). La mayoría de las fibras cuneolemniscales proceden de las neuronas que reciben aferencias cutáneas (las de la zona de agregados) y propioceptivas (las de la base reticular). En un trabajo realizado en el mdCN del gato, Fyffe *et al.* (1986b) observaron que el 50% de los axones cuneotalámicos se ramifican en colaterales que, en su mayoría, terminan en la parte ventral del CN y algunos

presentan colaterales recurrentes que terminan en la zona de agregados, pero lejos de su árbol dendrítico (Fig. 10). En este trabajo también se estudiaron unas pocas neuronas propioceptivas cuneotalámicas situadas en la periferia del mdCN; sin embargo, no se ha realizado hasta la fecha ningún trabajo similar en el que se hayan estudiado las neuronas cuneolemniscales propioceptivas de la base del núcleo.

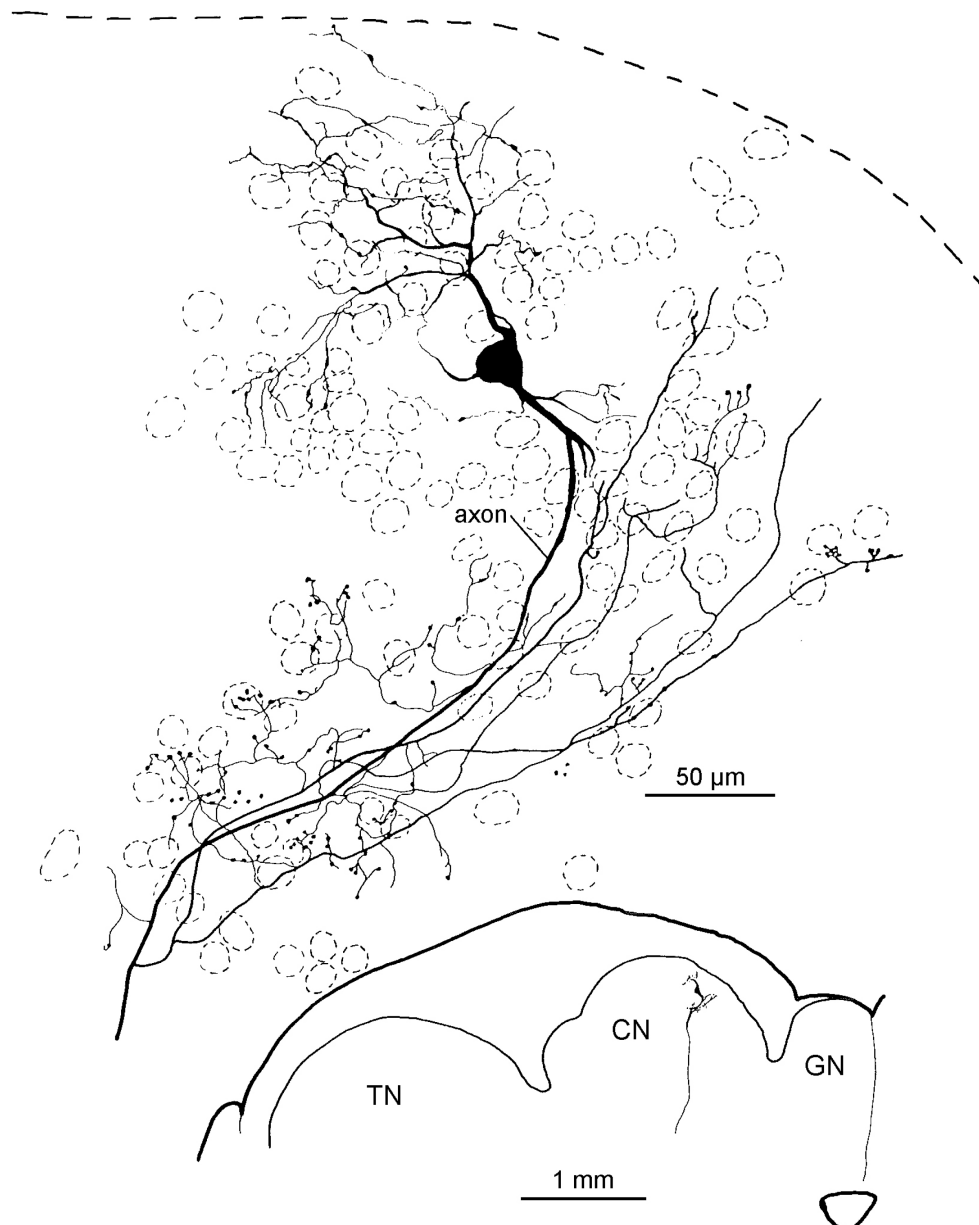


Figura 10. Reconstrucción de una neurona cuneolemniscal del mdCN cuyas dendritas se extienden hacia varios grupos de neuronas vecinas. El axón parte de una dendrita de gran tamaño y presenta una colateral recurrente que se ramifica ampliamente, pero proyecta a grupos de neuronas alejados del área que contiene el árbol dendrítico. Abreviaturas: CN, núcleo *cuneatus*; GN, núcleo *gracilis*; TN, núcleo espinal caudal del trigémino (figura y texto tomados de Fyffe *et al.*, 1986b).

Numerosos estudios anatómicos han demostrado que las neuronas de la parte ventral del CN también proyectan a otras regiones del tronco del encéfalo relacionadas con la función motora, tales como la oliva inferior, el área intercolicular, los núcleos pretectales, el núcleo rojo y la zona *incerta* (Groenewegen *et al.*, 1975; Hand y Van Winkle, 1977; Wiberg y Blomqvist, 1984; Berkley *et al.*, 1986; McCurdy *et al.*, 1998) y que las neuronas cuneolemniscales del CN principal son mucho menos abundantes en el rCN y en el cCN. En el caso del rCN, se ha descrito que las escasas neuronas propioceptivas que envían sus axones a través del ML proyectan, fundamentalmente, a la parte ventral y medial del núcleo rojo contralateral (Kuypers y Tuerk, 1964). Rosén en 1972, ya había sugerido que las células no cuneotalámicas del rCN del gato podían proyectar a estructuras extratalámicas o actuar como interneuronas (Andersen *et al.*, 1964b). Lue *et al.* (1997) también propusieron la posibilidad de que estas células fuesen interneuronas tras identificar, en el rCN de la rata, neuronas glicinérgicas de menor tamaño que las encontradas en el mCN y en el cCN. En esta misma línea Berkley *et al.* (1980) y Wiberg y Blomqvist (1984), describen cómo las neuronas no cuneotalámicas del rCN del gato que reciben aferencias musculares, presentan propiedades funcionales diferentes a las de las células cuneotalámicas del mCN. Por lo tanto, en el CN del gato existen dos poblaciones diferentes de neuronas activadas por aferencias propioceptivas: unas que proyectan al tálamo y otras, situadas preferentemente en el rCN, que envían su axón hacia otras estructuras (Nyberg y Blomqvist, 1984) o actúan como interneuronas.

1.6.- Propiedades fisiológicas generales de las neuronas propioceptivas del núcleo *cuneatus* principal, activadas por aferencias fusales

Características de la descarga, campos receptores, especificidad espacial y "musculotopía"

1.6.1.- Características de la descarga de las neuronas activadas por fibras fusales.

Las células de proyección que reciben aferencias fusales poseen una gran especificidad con respecto a la modalidad del estímulo que las activa, puesto que reciben información procedente de receptores de estiramiento pero no de receptores cutáneos, órganos tendinosos o corpúsculos de Pacini (Rosén y Sjölund, 1973a,b). Las neuronas que reciben aferencias de tipo *Ia* presentan, en su mayoría, actividad espontánea. En la respuesta de una célula activada

por aferencias *Ia* se pueden distinguir dos fases bien diferenciadas: una fase dinámica, en la que se produce una ráfaga durante el tiempo en el que el músculo se está estirando, seguida de una fase estática en la que la frecuencia de descarga disminuye rápidamente justo después de la ráfaga y lentamente durante el período en el que el músculo permanece estirado (Harvey y Matthews, 1961; Matthews, 1981; Edin y Vallbo, 1990). Cuando finaliza el estiramiento se produce un silencio seguido de la paulatina recuperación de la actividad espontánea (Matthews, 1981; Edin y Vallbo, 1990; Grill y Hallett, 1995). El incremento de la frecuencia durante la fase dinámica y la duración del silencio en la respuesta de una neurona activada por aferencias *Ia*, dependen directamente de la velocidad a la que se produzcan los cambios de longitud del músculo (Ottoson y Shetherd, 1971).

Este complejo patrón de descarga está determinado por cambios en la excitabilidad de las terminales sensitivas de los axones primarios que inervan los husos musculares. Durante la fase dinámica, el potencial de receptor aumenta y como consecuencia aumenta la excitabilidad del axón aferente. Esto se debe a que el alargamiento progresivo de la terminal sensitiva desencadena la apertura de un número cada vez mayor de canales inespecíficos para cationes, generándose una corriente de entrada de iones Na^+ y Ca^{+2} , y otra de salida de K^+ , lo que se traduce en la disminución del umbral del sitio de generación de potenciales de acción y como consecuencia, en la descarga de una ráfaga de potenciales de acción. El consiguiente incremento de la concentración intracelular de Ca^{+2} activa canales de K^+ dependientes de Ca^{+2} y la despolarización activa canales de K^+ dependientes de voltaje. Durante la fase estática no se activan las fibras intrafusales de tipo b_1 , que sólo responden al estiramiento dinámico, por lo que se produce una disminución en el potencial de receptor. Esto, unido al efecto de las dos corrientes de salida de K^+ produce un aumento en el umbral del sitio de generación de potenciales de acción de la terminal primaria *Ia*, lo que lleva a la disminución de la frecuencia de descarga (Schäfer, 1995). La causa del silencio al finalizar el estiramiento es la pérdida transitoria de tensión que sufren las fibras del huso, lo que provoca la disminución del potencial de receptor debido a la repolarización de las terminales sensitivas (Ottoson y Shepherd, 1971). A medida que la tensión se recupera, debido a las propiedades elásticas de los componentes del huso, aparece de nuevo la descarga espontánea. En la figura 17, en el apartado 3.6.1 de la sección de *Materiales y métodos*, se muestran registros de neuronas propioceptivas que presentan el patrón de descarga característico de estas fibras aferentes.

1.6.2.- Campos receptores propioceptivos.

El concepto de campo receptor es más difícil de aplicar a las neuronas que reciben aferencias profundas (musculares y articulares) que a las activadas por aferencias superficiales (tacto y presión). En animales anestesiados, la dificultad reside en estimular de forma selectiva un único músculo sin provocar interferencias mecánicas con los adyacentes o incluso con los antagonistas. Para evitarlo, se utilizó una técnica que permite la activación específica de las aferencias fusales, mediante la aplicación de desplazamientos controlados y de amplitud corta a un músculo aislado en un miembro denervado. Pero, sin duda, una preparación tan invasiva tendría una gran influencia sobre los campos receptores de las neuronas de relevo del CN, como se ha visto en el caso de los campos receptores cutáneos (Dostrovsky *et al.*, 1976; Loeb *et al.*, 1977; Pettit y Schwark, 1993) en los que actuaciones mucho menos agresivas provocan grandes cambios, incluso minutos después de la cirugía. Mackie y Rowe demostraron, en 1997, que se podían realizar estudios de fibras aferentes musculares individuales, utilizando una estimulación más fisiológica en una preparación sin denervación ni asilamiento muscular. En otros estudios, la extremidad se mantuvo intacta y la estimulación utilizada consistió en estiramientos pasivos provocados por la manipulación de las articulaciones (Rosén y Asanuma, 1972; Casabona *et al.*, 2008).

La vibración sinusoidal de alta frecuencia (100 – 800 Hz) es también un estímulo eficaz para la activación de los husos musculares. Su aplicación permite diferenciar entre las aferencias de tipo *Ia* y las de tipo *II*, debido a que las últimas son muy poco sensibles a este tipo de estimulación. Pero la vibración es igualmente efectiva activando los corpúsculos de Pacini, lo que podría dar lugar a identificaciones erróneas ya que algunas de las respuestas inducidas por los estímulos vibratorios podrían deberse a la actividad de aferencias de esta clase de receptores (Wiesendanger y Miles, 1982). Sin embargo, la posibilidad de error se reduce debido a que las aferencias de los corpúsculos de Pacini son escasas en el mCN, y especialmente en el rCN (Dykes *et al.*, 1982). Además, los receptores de Pacini presentan respuestas de adaptación rápida y sólo descargan al inicio y al final de un estiramiento en rampa, lo que facilita su identificación. Por otro lado, la ausencia de adaptación así como la descarga al inicio y durante un estiramiento en rampa, son propiedades diferenciales de las células propioceptivas que se utilizan para su identificación.

Otro método utilizado para activar específicamente los receptores de estiramiento de los husos musculares es la administración intravenosa de succinilcolina (Brinling y Smith, 1960; Oscarsson y Rosén, 1963) que, además, permite la identificación del tipo de aferencia fusar que ha sido activada (Brinling y Smith, 1960; Oscarsson y Rosén, 1963; Taylor *et al.*, 1992a,b; Durbaba *et al.*, 2006). (Ver el apartado 3.6.3 de *Materiales y métodos: Respuesta a la administración intravenosa de succinilcolina*).

1.6.3.- Especificidad espacial de las neuronas activadas por las aferencias fusales.

La mayoría de los investigadores han descrito una gran especificidad “muscular” en la vía de las aferencias de tipo *Ia*. Prueba de ello es que las células de relevo del CN responden específicamente a uno o a muy pocos músculos (Mackie *et al.*, 1998) y se cree que las pocas neuronas activadas por un conjunto mayor de músculos, incluso distantes entre sí, procesan información compleja de grupos musculares que actúan conjuntamente en ciertos tipos de movimientos (Rosén y Sjölund, 1973b).

A nivel cortical, Rosén y Asanuma (1973) encontraron que las células del área 3a del gato responden al estiramiento de un único músculo o de dos músculos adyacentes. Esta gran especificidad espacial se ha observado en experimentos en los que se han utilizado estímulos fisiológicos consistentes en estiramientos pasivos provocados por la manipulación de las articulaciones (Rosén y Asanuma, 1973), mientras que la convergencia espacial ha sido mayor en aquellos en los que se han aplicado estímulos eléctricos en los nervios (Oscarsson *et al.*, 1966; Wiesendanger, 1973).

1.6.4.- Organización topográfica y musculotopía.

A diferencia de lo que ocurre con las neuronas activadas por las aferencias cutáneas que llegan al mdCN, cuyos campos receptores siguen una progresión de distal a proximal a medida que las células ocupan una posición más profunda en el núcleo (Millar y Basbaum, 1975; Dykes *et al.*, 1982), las neuronas propioceptivas de las zonas reticulares más ventrales no presentan “musculotopía” precisa que siga esa correlación distal-proximal con respecto a la posición que ocupan en el eje dorso-ventral (Millar y Basbaum, 1975; Dykes *et al.*, 1982). Sin embargo, Jasmin y colegas, en 1985, describieron una cierta organización topográfica de las aferencias musculares en el mvCN. Según estos autores, existe una distribución mediolateral de las aferencias, representando los distintos segmentos corporales. Así, las aferencias

procedentes de los músculos de la garra aparecen mediales a las del antebrazo, lo que está en concordancia con la posición lateral de las aferencias de la musculatura del cuello descrita por Abrahams *et al.* en 1984.

1.7.- Neurotransmisores implicados en la transmisión y la modulación de la información somatosensorial a nivel de los DCN

1.7.1.- Transmisión de la información aferente.

Las fibras aferentes que alcanzan los DCN liberan, principalmente, el aminoácido glutamato que activa tanto a las neuronas de circuito local como a las de proyección (Galindo *et al.*, 1967; Roberts, 1974; Kojima y Kanazawa, 1987; De Biasi y Rustioni, 1990; Popratiloff *et al.*, 1997). Los dos principales neurotransmisores inhibidores implicados en el proceso de modulación y filtraje son el GABA y la glicina (Gly).

La aplicación iontoforética de glutamato activa las neuronas de los DCN, mientras que la eyección de AP-5 (antagonista de los receptores NMDA) y de antagonistas de los no-NMDA como el HA-966, el NBQX o el CNQX, bloquea la transmisión sináptica excitatoria (Galindo *et al.*, 1967; Davies y Watkins, 1973a,b; Aguilar *et al.*, 2003; Soto *et al.*, 2004). Esto indica que el glutamato actúa a través de receptores NMDA y no-NMDA, generando potenciales postsinápticos excitadores tanto en las neuronas de relevo como en las interneuronas de los DCN de la rata (Popratiloff *et al.*, 1996; Deuchars *et al.*, 2000). En un trabajo realizado en nuestro laboratorio por Soto *et al.* (2004), se demostró que la información cutánea aferente se transmite a las neuronas CL y nCL del mdCN del gato, a través de los receptores AMPA, NMDA y kainato. Además, Soto y colegas ahondaron en el mecanismo de generación de la respuesta excitadora y describieron que los diferentes tipos de receptores se activan de forma secuencial. Los AMPA se activan principalmente durante la fase inicial de la respuesta, mientras que los receptores NMDA y de kainato se activan predominantemente durante la fase tardía. Hasta la fecha se desconoce si las aferencias primarias propioceptivas están moduladas de manera similar.

1.7.2.- Modulación de la actividad aferente primaria.

El estudio de los mecanismos de modulación de la información se ha centrado en las neuronas que reciben aferencias cutáneas en el mdCN. Por este motivo, son pocos los datos que se conocen en relación al procesamiento de la información propioceptiva. En el gato, el GABA media la inhibición de la actividad de las neuronas de circuito local y de las neuronas de relevo a nivel

pre- y postsináptico. El papel de la Gly ha sido menos estudiado pero con los datos disponibles se cree que actúa preferentemente a nivel postsináptico.

Estudios realizados en la rata demostraron que la estimulación de las DC o del ML produce la liberación, dependiente de calcio, de ambos neurotransmisores inhibidores, lo que modifica la transmisión sináptica (Roberts, 1974). En el gato, las neuronas no cuneolemniscales pueden liberar GABA y/o Gly (Galindo *et al.*, 1967) y la sección de las DC no modifica la concentración de GABA o su recaptación en los DCN (Kojima y Kanazawa, 1987). En la rata, el GABA detectado en los DCN es de origen intrínseco (Barbaresi *et al.*, 1986; Lue *et al.*, 1996) y del mismo modo, existen datos que demuestran que la Gly de los DCN es producida por neuronas de circuito local (Roberts, 1974; Lue *et al.*, 1997). Teniendo en cuenta los datos anteriores y dado que tanto en el gato como en otros mamíferos (Barbaresi *et al.*, 1986) el 25% de las neuronas del mdCN y de los DCN en general, presentan GABA o ácido-glutámico-descarboxilasa (GAD, el enzima encargado de la síntesis de GABA) (Rustioni *et al.*, 1984; Heino y Westman, 1991), se ha concluido que estas células son las interneuronas responsables de la abundante inervación GABAérgica presente en los DCN (Westman *et al.*, 1984; Kojima y Kanazawa, 1987; Rustioni y Weinberg, 1989).

1.7.2.1.- Efecto del GABA.

Las neuronas GABAérgicas ejercen su efecto inhibitorio al ser activadas por vías ascendentes, descendentes y recurrentes (Kelly y Renaud, 1973a,c). Los botones sinápticos que presentan inmunoreactividad para el GABA o el GAD son de pequeño tamaño y realizan sinapsis con terminales axónicas grandes y con dendritas (Rustioni *et al.*, 1984; Westman *et al.*, 1984; Heino y Westman, 1991). Este y otros datos indican que en el gato (Westman *et al.*, 1984; Banna y Jabbur, 1989) y en la rata (Davidson y Southwick, 1971; Lue *et al.*, 1996) el efecto inhibitorio del GABA es ejercido tanto a nivel presináptico como postsináptico. El efecto postsináptico está mediado por receptores GABA_A y es revertido por la bicuculina (antagonista específico de los GABA_A) (Aguilar *et al.*, 2002, 2003; Soto *et al.*, 2004), mientras que a nivel presináptico actúan tanto los receptores GABA_A (Davidson y Southwick, 1971) como los GABA_B (Deuchars *et al.*, 2000). Los receptores GABA_B son resistentes a la bicuculina tanto en la rata (Newberry y Simmonds, 1984) como en el gato (Soto *et al.*, 2006) y al menos en los DCN de las ratas neonatas, parecen estar restringidos a las terminales presinápticas de las aferencias primarias (Deuchars *et al.*, 2000). Este último dato no está confirmado en el gato, en el que los numerosos

efectos mediados por el receptor GABA_B sobre el campo receptor y el patrón de descarga de las neuronas CL y nCL activadas por aferencias cutáneas, podrían ejercerse presinápticamente y/o a nivel postsináptico sobre las dendritas distales (Soto *et al.*, 2006). Una vez más, se desconoce la localización y los posibles efectos mediados por los receptores GABA_A y GABA_B en las neuronas propioceptivas.

1.7.2.2.- Efecto de la glicina.

Aunque existen algunos trabajos (Galindo *et al.*, 1967; Galindo, 1969; Kelly y Renaud, 1973a,b), son pocos los datos disponibles acerca de las neuronas glicinérgicas y la distribución de sus receptores en los DCN del gato. Este aspecto ha sido más estudiado en la rata, en la que se ha demostrado que la Gly es uno de los principales neurotransmisores implicados en la modulación de la transmisión sináptica en el CN (Lue *et al.*, 1997, 2000). En esta especie se detectaron tanto la Gly como los sitios de unión para la estricnina (antagonista del receptor de Gly) en las fibras del fascículo *cuneatus*, en las neuronas del CN y en otras neuronas distribuidas por toda la extensión de los DCN (Pourcho *et al.*, 1992; Zarbin *et al.*, 1981). En el CN de la rata las células glicinérgicas y GABAérgicas son más abundantes en posiciones cercanas al óbex, aunque se pueden encontrar esparcidas por todo el núcleo. Las neuronas glicinérgicas, son más grandes que las que no presentan marcaje para la Gly y, según Popratiloff *et al.* (1996) y Lue *et al.* (1997), constituyen aproximadamente el 30% del total de las células del CN, mientras que el 42% de las neuronas nCL son positivas para los dos neurotransmisores inhibidores (Popratiloff *et al.*, 1996). En el rCN de la rata, las neuronas marcadas para la Gly son significativamente más pequeñas que las de las regiones medial y caudal, algo que unido a su morfología y al carácter radial de sus dendritas, refuerza la teoría de que puedan ser interneuronas (Lue *et al.*, 1997).

Los terminales glicinérgicos realizan sinapsis de tipo axodendrítico, axosomático y axoaxónico con elementos no marcados para la Gly, pero los contactos más frecuentes son los axodendríticos (Lue *et al.*, 1997), algo que está en concordancia con datos anteriores obtenidos en el gato, que sostienen que el efecto inhibitorio de la Gly se ejerce predominantemente a nivel postsináptico (Galindo *et al.*, 1967; Galindo, 1969; Kelly y Renaud, 1973a,b) y, específicamente, sobre las neuronas no cuneolemniscales (Aguilar *et al.*, 2002, 2003). En esta misma línea están los resultados de Todd *et al.* (1995) obtenidos en la médula espinal de la rata, según los cuales los receptores de Gly (GlyRs) están restringidos a las sinapsis axodendríticas, por lo que la Gly ejercería un

efecto poco importante a nivel presináptico. Popratiloff *et al.* (1996), propusieron que esto mismo podría suceder en el CN, una idea ratificada posteriormente cuando se descubrió que en el mdCN del gato, las interneuronas glicinérgicas activadas por fibras córticofugales (Aguilar *et al.*, 2003) o aferencias primarias cutáneas (Soto *et al.*, 2004) ejercen un efecto desinhibidor mediante la inhibición de las células GABAérgicas que, a su vez, sinaptan con las neuronas de proyección cuneolemniscales.

1.7.3.- Modulación recurrente.

La estimulación del ML o de las DC produce tanto inhibición (Andersen *et al.*, 1964a,c; Galindo *et al.*, 1967; Davidson y Smith, 1972; Kelly y Renaud, 1973c) como activación en las neuronas CL y nCL de los DCN (Canedo *et al.*, 1998, 2000) y un aumento en la concentración de GABA y de Gly (Roberts, 1974). Datos electrofisiológicos (Andersen *et al.*, 1964b; Davidson y Smith, 1972; Canedo *et al.*, 2000) han mostrado que estos efectos se inducen a través de un circuito recurrente formado por colaterales de los axones de las neuronas cuneotalámicas, que se ramifican antes de entrar en el ML (Fig. 10; Fyffe *et al.*, 1986b). Las colaterales axónicas recurrentes hacen sinapsis con interneuronas que pueden actuar a nivel postsináptico o presináptico. El axón de la neurona de circuito local contacta, a nivel presináptico, con la terminal de la fibra aferente primaria mediante una sinapsis axoaxónica. En esta sinapsis se libera GABA que puede actuar alterando la liberación presináptica de glutamato (Andersen *et al.*, 1970; Curtis *et al.*, 1971; Malcangio y Bowery, 1996). Pero los efectos recurrentes no son exclusivamente inhibitorios ya que la mayoría de las neuronas cuneolemniscales, al menos las activadas por aferencias cutáneas, reciben aferencias excitatorias a través de colaterales de los axones que van hacia el tálamo (Canedo *et al.*, 2000; Canedo y Aguilar, 2000). La excitación recurrente sobre las células de proyección al tálamo es inhibida por la acción de interneuronas GABAérgicas y desinhibida (desinhibición = inhibición de la inhibición) por la intervención de interneuronas glicinérgicas que, al ser activadas por las colaterales recurrentes, inhiben a las células GABAérgicas (Aguilar *et al.*, 2002). En este último artículo, los autores sugieren que este mecanismo podría darse también en el procesamiento mediado por las fibras córticofugales que alcanzan los DCN, hecho que demuestran un año más tarde (Aguilar *et al.*, 2003, ver apartado siguiente).

1.7.4.- Modulación cortical.

La actividad del ML disminuye antes y durante el movimiento (Ghez y Pisa, 1972; Coulter, 1974) y la estimulación de campos receptores cutáneos produce inhibición en los DCN (Jabbur y Banna, 1970). Parece evidente, por tanto, que en los DCN intervienen mecanismos de procesamiento que modulan la transmisión de la información propioceptiva aferente. Aunque, por el momento, tales mecanismos no se conocen en profundidad, es probable que estén implicadas las fibras córticofugales que cursan por el tracto piramidal con origen en el área 4 y en el área 3a. Se ha visto que la estimulación eléctrica de estas áreas puede activar o inhibir la actividad de las neuronas de los DCN contralaterales (Jabbur y Towe, 1961; Towe y Jabbur, 1961; Andersen *et al.*, 1964b; Wiesendanger y Miles, 1982; Canedo, 1997; Palmeri *et al.*, 1999; Canedo y Aguilar, 2000; Mariño *et al.*, 2000; Aguilar *et al.*, 2003). Y que las fibras del tracto piramidal que proyectan o dejan colaterales en los DCN (Cheema *et al.*, 1983; Lamas *et al.*, 1994; Kably y Drew, 1998), hacen sinapsis mayoritariamente sobre interneuronas que se localizan en el mvCN y en el rvCN, regiones a las que llegan las aferencias propioceptivas. Por el contrario, las fibras córticofugales que transmiten información cutánea provienen del área 3b y se dirigen exclusivamente, a la zona de agregados del mdCN (Rustioni y Hayes, 1981; Cheema *et al.*, 1983; Martinez *et al.*, 1995).

Las fibras córticofugales del tracto piramidal no realizan contactos monosinápticos con las terminales axónicas de las fibras del fascículo *cuneatus* (Andersen *et al.*, 1964c; Cheema *et al.*, 1984), sino que hacen sinapsis en interneuronas, y son estas las que modulan la transmisión actuando postsinápticamente y, probablemente también a nivel presináptico, sobre las neuronas cuneotalámicas (Walberg, 1965). Estudios realizados en neuronas del mdCN activadas por aferencias cutáneas (Canedo, 1997; Palmeri *et al.*, 1999; Canedo y Aguilar, 2000; Mariño *et al.*, 2000) desvelaron que las entradas corticales promueven la activación de neuronas de los DCN que comparten el mismo campo receptor, y la inhibición lateral de las activadas por campos receptores distintos. Más concretamente, en el trabajo de Palmeri y colegas (1999) se describe cómo la estimulación de un área de la corteza MI que controla los movimientos de las articulaciones de un miembro, es capaz de modificar la descarga espontánea de neuronas CL que presentan campos receptores cutáneos. La estimulación generó, mayoritariamente, respuestas excitatorias en aquellas neuronas cuyos campos receptores se localizaban cerca de la articulación activada por la estimulación cortical; y respuestas

inhibitorias en las células con campos receptores alejados de la articulación. Aguilar y colegas en 2003, aportaron nuevos datos de cómo la estimulación cortical modula el antagonismo entre el centro y la periferia de los campos receptores cutáneos en el CN, mediante tres mecanismos diferentes: 1) activando monosinápticamente las neuronas CL con campos receptores alineados topográficamente a través de receptores no-NMDA y NMDA, 2) produciendo la inhibición lateral de las células CL no topográficamente alineadas a través de interneuronas GABAérgicas y 3) desinhibiendo a las CL alineadas, mediante la intervención de dos interneuronas que actúan en serie, la primera glicinérgica y la segunda GABAérgica.

Poco se sabe acerca de la influencia cortical sobre la actividad de las neuronas CL propioceptivas. En un trabajo realizado por Rosén en 1972, se describe cómo el patrón de inhibición de la vía ascendente de las aferencias *Ia* por parte de las fibras córticofugales, es similar al descrito para otras modalidades sensoriales en los DCN del gato. Rosén observó que la estimulación del área cortical apropiada inhibe la actividad de las neuronas cuneotalámicas que reciben información a través de fibras del grupo *I*, activando células de circuito local (probablemente interneuronas inhibitorias). Pero estos indicios resultan insuficientes para aseverar que mecanismos similares a los propuestos por Aguilar y colegas en 2003, intervengan en el procesamiento de la información propioceptiva a nivel de los DCN.

1.8.- Modulación de la actividad motora a nivel del tronco del encéfalo

La región locomotora mesencefálica y el núcleo reticularis gigantocelularis

En el tronco del encéfalo se han identificado varias estructuras capaces de activar la locomoción y modular la actividad motora. Entre ellas se encuentran la región locomotora mesencefálica y el núcleo *reticularis gigantocelularis*, dos estructuras anatómicamente interconectadas que reciben aferencias polisensoriales y están implicadas en la integración sensoriomotora (Armstrong, 1988; Whelan, 1996; Canedo, 1997; Takakusaki *et al.*, 2003; Winn, 2008).

1.8.1.- Región locomotora mesencefálica (MLR).

La región locomotora mesencefálica fue descubierta en el gato por Shik *et al.*, en 1966. Existe cierta controversia en cuanto al núcleo concreto en el que se ubica pero, en cualquier caso, se trata de un área de unos 2 mm² situada justo debajo del colículo inferior, que incluye al núcleo pedúnculo pontino y el extremo caudal del núcleo cuneiforme, en las proximidades del *brachium*

conjunctivum (pedúnculo cerebeloso superior; Fig. 11A) (Whelan, 1996). Sus células reciben aferencias procedentes de diferentes estructuras tales como los ganglios de la base, el área hipotalámica lateral o la corteza frontal (Garcia-Rill *et al.*, 1983), lo que le permite participar en conductas locomotoras complejas. Una de sus principales aferencias son las proyecciones GABAérgicas procedentes de los ganglios de la base, concretamente, de la sustancia negra *pars reticulata* (SNr). Las aferencias inhibitorias que provienen de la parte lateral de la SNr modulan el tono de la musculatura postural, mientras que las de la parte medial influyen sobre la locomoción (Takakusaki *et al.*, 2003). La MLR ejerce su efecto sobre la actividad motora a través de diferentes estructuras a las que envía proyecciones descendentes que terminan, entre

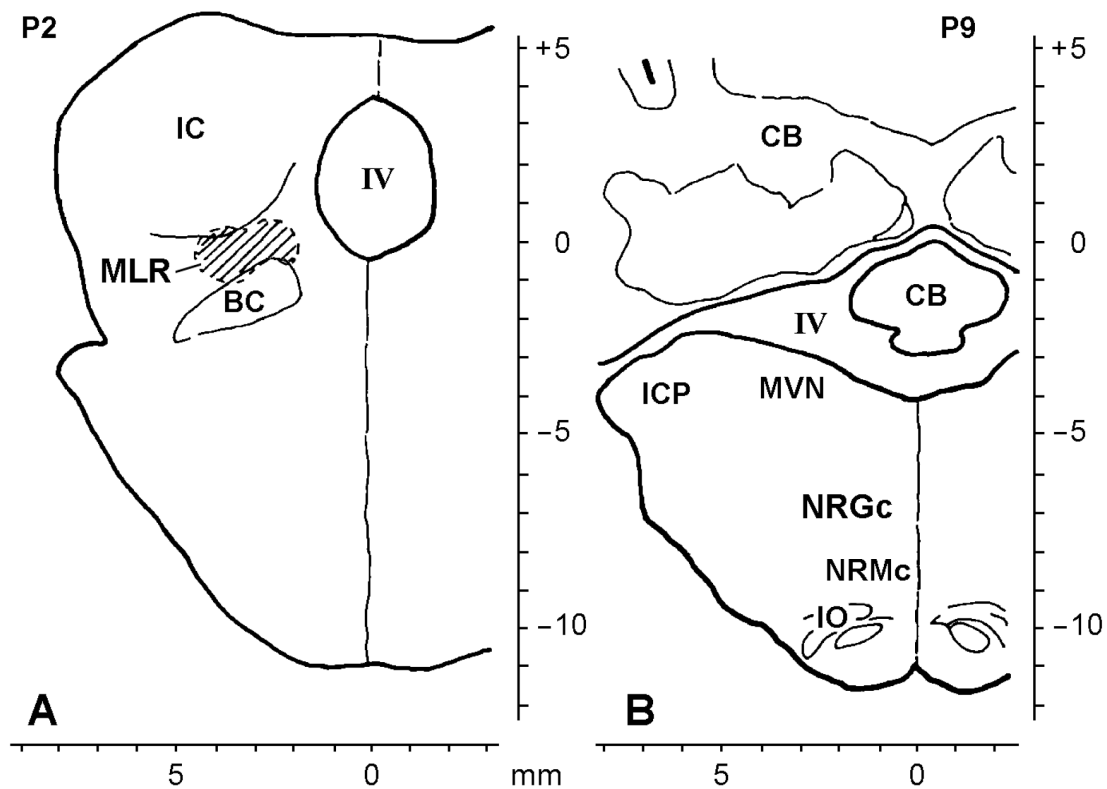


Figura 11. Esquema de la localización de la región locomotora mesencefálica (MLR) (A) y el núcleo *reticularis gigantocellularis* (NRGc) (B). **A:** sección coronal a nivel P2 en la que se muestra la MLR (marcada con líneas diagonales), de la que forman parte el núcleo pedunculopontino y el extremo caudal del núcleo cuneiforme. La estructura está delimitada por el colículo inferior (IC) y el *brachium conjunctivum* (BC). **B:** sección coronal a nivel P9 en la que se aprecia la localización del NRGc, ocupando la parte medial de la región caudal de la formación reticular bulbar. Inmediatamente por debajo del NRGc, aparece el núcleo *reticularis magnocellularis* (NRMc), otra estructura relacionada con la modulación de la actividad motora. Otras abreviaturas: CB, cerebelo; ICP, pedúnculo cerebeloso inferior; IO, oliva inferior; MVN, núcleo vestibular medial; IV, cuarto ventrículo (figura adaptada de Armstrong, 1988).

otras dianas, en la formación reticular bulbar medial (MRF) y en los núcleos *reticularis gigantocellularis* (NRGc) y *magnocellularis* (NRMc) (García-Rill y Skinner, 1987). Ambos núcleos presentan gran cantidad de neuronas retículoespinales que clásicamente se considera que se encargan de la modulación de la musculatura postural y axial (ver el apartado siguiente).

1.8.2.- El núcleo *reticularis gigantocellularis*.

El NRGc forma parte de la formación reticular bulbopontina que, entre otras funciones, regula bilateralmente la actividad de la musculatura a todos los niveles del neuroeje. Además del NRGc, en la región se encuentran otras zonas relacionadas con la modulación de la actividad motora tales como el NRMc (ventral al NRGc; Fig. 11B) o los núcleos *reticularis pontis caudalis* y *pontis oralis* (rostrales al NRGc).

El gran tamaño del NRGc implica que sus límites varían considerablemente a lo largo de la estructura, especialmente en el eje dorso-ventral. En el eje antero-posterior, el extremo caudal se sitúa en -11.0 y el rostral en -5.0 mm; en el eje medio-lateral va de 0.7 a 2.3 mm; el límite dorsal oscila entre -7.5, en el extremo caudal y -4.5 en el rostral; y el límite ventral va desde -11.5 en el extremo caudal, a -8.5 en el extremo rostral.

En cuanto a su localización en el tronco del encéfalo, se sitúa en la parte medial de la región caudal de la MRF y está compuesto por células de gran tamaño, muchas de las cuales son neuronas retículoespinales que muestran una cierta organización topográfica en relación con las vías que siguen sus axones descendentes y el nivel de la médula en el que terminan (Canedo, 1997). Los axones de las neuronas retículoespinales de la parte rostro-dorsal del NRGc descienden a través del tracto retículoespinal medial (Ito *et al.*, 1970; Peterson *et al.*, 1975), mientras que las fibras que se originan en las regiones más caudales descienden tanto medial como lateralmente (Nyberg-Hansen, 1965; Petras, 1967; Canedo, 1997) y algunas de ellas se ramifican e inervan ambos lados de la médula (Peterson *et al.*, 1975; Matsuyama *et al.*, 1988). Los axones retículoespinales terminan a diferentes niveles a lo largo de la médula espinal. La mayoría de los que alcanzan la médula cervical proyectan además a segmentos inferiores (Peterson *et al.*, 1975; Fukushima, *et al.*, 1979). Independientemente del nivel al que lleguen, las fibras retículoespinales terminan en las áreas intermedia y ventral de la médula (Peterson, 1979). Activan monosinápticamente o mediante más sinapsis (a través de interneuronas) a las motoneuronas del asta ventral que, a su vez, inervan preferentemente, aunque no de forma exclusiva (Baker, 2011), la musculatura

proximal y axial de los distintos segmentos del cuerpo (Wilson *et al.*, 1970; Grillner *et al.*, 1971; Peterson *et al.*, 1978). La distribución de las proyecciones retículoespinales en diferentes niveles de la médula facilita la coordinación de las respuestas motoras de los miembros delanteros y traseros, al actuar sobre grupos diferentes de motoneuronas; incluso entre extremidades de los dos lados del cuerpo (Canedo, 1997) gracias a la naturaleza bilateral de algunas de estas proyecciones descendentes (Peterson *et al.*, 1975; Matsuyama *et al.*, 1988). Esto permite la coordinación de los movimientos bilaterales de la musculatura distal, ajustando los cambios posturales asociados en respuesta a los movimientos programados o a cambios inesperados (Schepens y Drew, 2004). Además, el NRGc recibe información tanto de la médula espinal como de estructuras supraespinales tales como, entre otras, el cerebelo, la corteza motora, los ganglios basales, el colículo superior y la MLR (Armstrong, 1986; Canedo, 1997), por lo que constituye un lugar de integración para los comandos motores que descienden hacia la médula espinal a través de los tractos retículoespinales (Noga *et al.*, 1991).

2.- OBJETIVOS

El objetivo del trabajo consistió en intentar descifrar los mecanismos que llevan al procesamiento y a la transmisión ascendente de la información propioceptiva en el CN. Para ello, se estudiaron las propiedades electrofisiológicas de las neuronas propioceptivas del CN principal en su región rostral y en su parte medio-ventral, y el grado de interacción entre ambas poblaciones celulares. Como hipótesis de partida se consideró que las neuronas del rCN podrían funcionar como interneuronas encargadas de regular la actividad de las neuronas de proyección al tálamo con origen en el mvCN.

Para llevar a cabo el estudio, se diseñó un preparado experimental que se describe con detalle en la próxima sección y mediante el cual se pretendían alcanzar los siguientes **objetivos específicos**:

» Estudiar las posibles interacciones entre las neuronas propioceptivas del rCN y las células cuneolomnisciales propioceptivas del mCN, empleando como herramientas:

- El registro extracelular de las neuronas propioceptivas del rCN y del mCN, utilizando electrodos de metal y de vidrio.
- Microestimulación eléctrica en el rCN para observar su efecto sobre la actividad de las neuronas cuneolomnisciales del mvCN.
- Eyección microiontoforética de GABA, de Gly y de sus correspondientes antagonistas, para observar sus efectos sobre la actividad, espontánea y evocada, de las neuronas propioceptivas del mCN.

» Estudiar el papel de la formación reticular bulbar en la modulación de la actividad de las neuronas propioceptivas del mCN activadas por aferencias fusales primarias, utilizando:

- El registro extracelular de neuronas del mCN, a través de electrodos de tungsteno.
- La estimulación eléctrica del NRGc y de la MLR, dos estructuras implicadas en la regulación sensoriomotora.

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- Animales de experimentación

El animal de elección ha sido el gato doméstico (*Felis catus domestica*). Los procedimientos y la manipulación de los animales se realizaron en conformidad con las directivas marcadas para la investigación científica con animales de experimentación por el Consejo de la Unión Europea (86/609 EEC) y el Estado Español (BOE 67/1988), y fueron aprobadas por el Comité para el Cuidado Animal de la Universidad de Santiago de Compostela (15005 AE/07/01/02/ACL1). Se utilizaron 35 gatos de ambos sexos con pesos comprendidos entre los 3.0 y 4.5 kg. Los animales provenían del animalario del Servicio de Animales de Experimentación de la Universidad de Córdoba.

3.2.- Anestesia y cirugía

Durante el transcurso de los experimentos los animales permanecieron en todo momento bajo un estado de anestesia profunda. Inicialmente el animal se tranquilizó mediante la administración intramuscular de ketamina (30 mg/kg, Merial Laboratorios, S.A.) para facilitar su manipulación y evitar el estrés. A continuación, se insertó una cánula en una de las venas de la cola. A través de esta vía se inyectó una primera dosis de anestesia (α -cloralosa, 60 mg/kg; Sigma-Aldrich, España) que indujo un estado de anestesia profunda. La anestesia se mantuvo durante todo el procedimiento experimental con la administración periódica de dosis de mantenimiento que consistieron en bolos de α -cloralosa a una concentración de 25 mg/kg, que se administraron cada 8 horas o en el momento en el que el animal presentó signos de anestesia ligera (husos en el electroencefalograma, dilatación pupilar, incremento de la frecuencia cardíaca).

Con el animal anestesiado se realizó una traqueotomía para ventilarlo artificialmente mediante una bomba de respiración (Cat/Rabbit ventilador M6025, Ugo Basile Biological Research Apparatus, Italia). En cuatro de los experimentos se procedió a la colocación de una cánula en la vena yugular izquierda que se utilizó para la posterior administración de succinilcolina (SCh) (ver el apartado 3.6.3). La temperatura rectal se mantuvo a 37.5 ± 0.5 °C mediante una manta térmica acoplada a un termorregulador (RTC1, Cibertec SA, España).

Se colocaron dos electrodos de copa subcutáneos a través de los cuales se registró de forma continua el electrocardiograma. La señal captada se amplificó mediante un seguidor de cátodo (NL – 100, Digitimer Ltd., UK), desde donde pasó a un amplificador AC (NL104A-AC preamplifier, Digitimer Ltd., UK)

y de aquí a un sistema de filtros (NL125/6-Filter, Digitimer Ltd., UK). Los parámetros de filtrado fueron: en la banda baja 5 Hz y 50 Hz en la alta. Una vez filtrada, la señal se monitorizó de forma continua en un osciloscopio analógico (Tecktronix, USA) y se llevó a un amplificador de audio (Neurolog System, Digitimer Ltd., UK).

La actividad cardíaca proporciona información acerca de la reactividad del animal y por tanto ayuda a mantener las condiciones idóneas de anestesia. Un aumento de la frecuencia cardíaca indica anestesia insuficiente.

Se fijó la cabeza del animal en un aparato de estereotaxia (David Kopf Instruments, USA) alzándose 24° sobre el plano horizontal para facilitar el acceso a las áreas de registro. Se fijó el tronco del animal mediante dos pinzas, una colocada en la apófisis espinosa de la séptima vértebra cervical y la otra en la cadera. Estas fijaciones, junto con un neumotórax bilateral, contribuyeron a minimizar los movimientos del tejido nervioso producidos por el latido cardíaco y la ventilación. Con el mismo propósito de eliminar cualquier movimiento se inyectó un bloqueante muscular, el bromuro de vecuronio (Norcurón 10 mg, Organon Española, SA), disuelto en una solución de glucosa al 5% y administrado por vía intravenosa de forma continua mediante una bomba de perfusión (Secura, B. Braun, Alemania), a una concentración de 0.2 mg/kg·h y un flujo de 3.5 ± 0.5 ml/h (dependiendo del peso del animal). El bromuro de vecuronio es un bloqueante no despolarizante de la actividad neuromuscular que actúa como un antagonista competitivo reversible, compitiendo con la acetilcolina por los sitios de unión de los receptores colinérgicos nicotínicos en la placa motora.

La concentración de CO₂ espirado se monitorizó en todo momento a través de un capnógrafo (Vamos Dragër Medical, Dräger and Siemens Company, Alemania) y se mantuvo en valores del $4.0 \pm 0.5\%$, mediante la manipulación de los parámetros de ventilación (frecuencia y volumen de embolada). De este modo se alcanzan las condiciones homeostáticas de pH que son determinantes para la supervivencia del animal y el desarrollo de una actividad neuronal normal. A continuación, se practicó una incisión en la piel siguiendo la línea media desde el área frontonasal hasta la quinta vértebra cervical. Se separó la musculatura de la calota y se resecó la de la parte dorsal del cuello. Se realizaron varios agujeros de trépano sobre las áreas en las que posteriormente se colocaron los electrodos de registro y estimulación. Se expuso el foramen magno por resección de la membrana atlanto-occipital y se practicó la laminectomía del arco dorsal de las cuatro primeras vértebras cervicales (también el de la quinta en los cuatro experimentos en los que se estimularon

las DC). Una vez expuesto el tejido nervioso y tras haber sido retirada la duramadre se procedió a la colocación del electrodo de registro del electroencefalograma (EEG) y los electrodos de estimulación en las estructuras estudiadas (ver la Fig. 12). Los diferentes tipos de electrodos empleados, así como su ubicación concreta se describen más adelante en los apartados 3.3 (*Estimulación eléctrica*) y 3.7 (*Técnicas de registro extracelular*).

La señal electroencefalgráfica se llevó a un seguidor de cátodo (NL – 100, Digitimer Ltd., UK), se amplificó (NL104A-AC preamplifier, Digitimer Ltd., UK), se filtró entre 0.5 y 150 Hz (NL125/6-Filter, Digitimer Ltd., UK) y se amplificó de nuevo (NL106-AC/DC amplifier, Digitimer Ltd., UK). La señal analógica una vez amplificada, se digitalizó a través de una tarjeta CED 1401plus (CED Ltd., UK), se procesó con el programa Spike2 y se monitorizó en la pantalla del ordenador, en cuyo disco duro se almacenaron todos los registros para su análisis posterior.

3.3.- Estimulación eléctrica

Tipos de electrodos, estructuras estimuladas, coordenadas estereotáxicas y microestimulación

Se empleó la estimulación eléctrica para estudiar los efectos ejercidos sobre las neuronas propioceptivas desde diferentes estructuras situadas a distintos niveles del sistema nervioso central. La estimulación se aplicó mediante un generador de pulsos (S8800 Stimulator, Grass Instruments., USA) y unidades de corriente constante (PSIU6, Grass Instruments., USA). La duración de los pulsos rectangulares catódicos varió entre 0.05 y 0.2 ms y a intensidades comprendidas entre 10 μ A y 5 mA.

La diversidad de estructuras y localizaciones, así como las características propias del tejido a estimular y la naturaleza de las respuestas que se buscaban, requirió la utilización de diferentes tipos de electrodos de estimulación. En la mayoría de los casos se emplearon electrodos bipolares de acero concéntricos o paralelos, de distintos tamaños y características (ver el *Apéndice I*) y en algunas ocasiones la estimulación se realizó a través de electrodos de tungsteno.

3.3.1.- Estimulación eléctrica en el mesencéfalo y en el tronco del encéfalo.

El electrodo bipolar paralelo de mayor tamaño (NE-200; Rhodes Medical Instruments Inc., USA) se utilizó para las estimulaciones en el ML contralateral

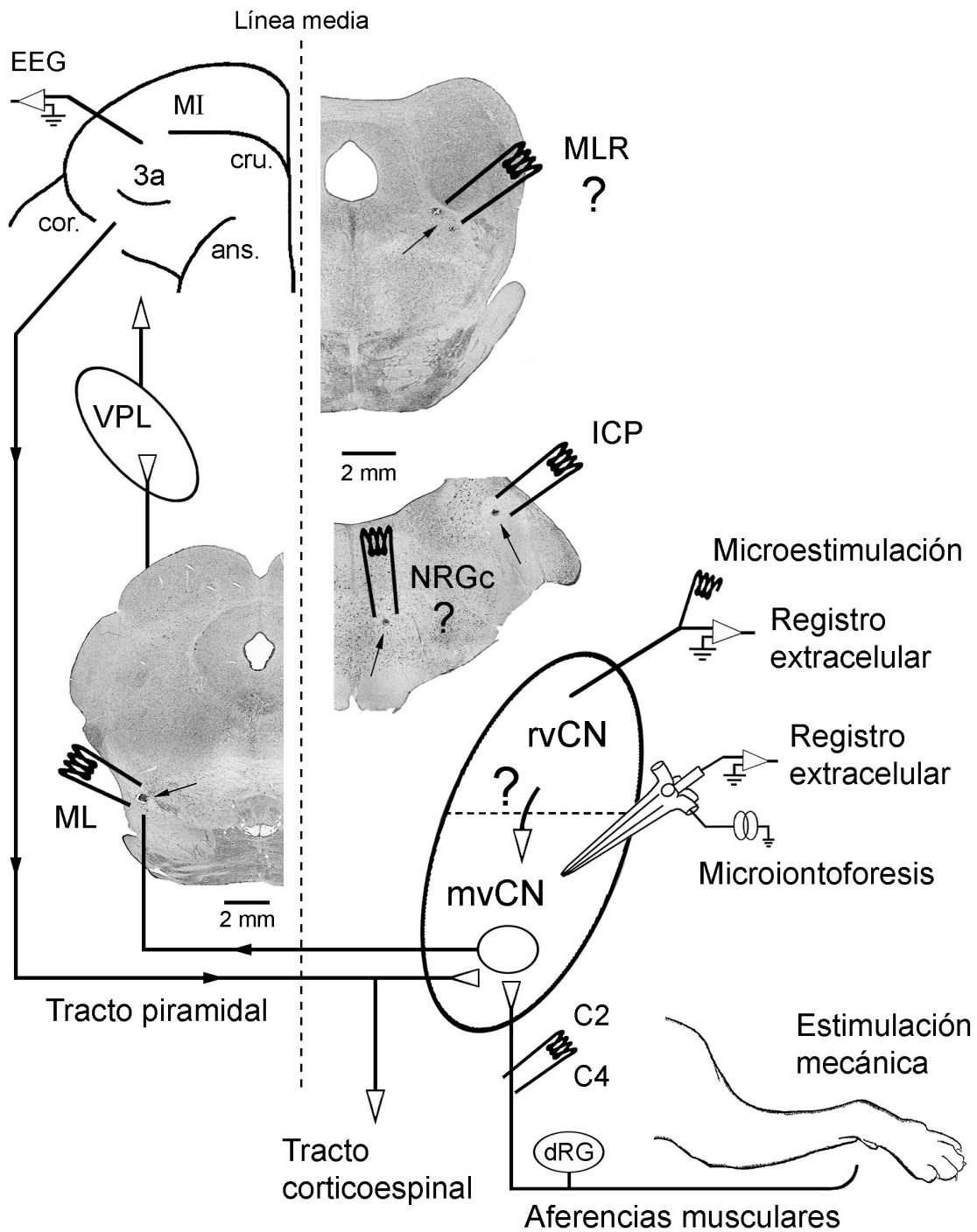


Figura 12. Esquema general del preparado experimental utilizado. Los electrodos de estimulación se colocaron en el lemnisco medial (ML) contralateral, y en el NRGc, el pedúnculo cerebeloso inferior (ICP), la MLR y la médula cervical (C2 y C4) ipsilaterales. Se realizaron registros extracelulares simultáneos en el rvCN y en el mvCN. Se estudió el efecto de la microestimulación en el rvCN, aplicada a través de los electrodos de registro, sobre las neuronas propioceptivas del mvCN. Se utilizó la eyección microiontoforética para estudiar los efectos ejercidos por el GABA y la Gly sobre la actividad espontánea y la inducida de las neuronas del mvCN. Se muestran tres secciones coronales con lesiones electrolíticas (señaladas con flechas) en el ML, la MLR, el NRGc y el ICP. Otras abreviaturas: ans., surco *ansatus*; cor., surco *coronalis*; cru., surco *cruciatus*; dRG, ganglio de la raíz dorsal; EEG, electroencefalograma; VPL, núcleo ventral-posterior-lateral del tálamo.

(AP 1.0, ML 4.5, DV -5.0) y este mismo u otro modelo de bipolar concéntrico (NE-100, Rhodes Medical Instruments Inc., USA) para estimular la MLR (-2.0, 4.0, -2.0), el pedúnculo cerebeloso inferior (ICP) (-8.5, 5.5, 4.5) y el NRGc ipsilaterales (-9.0, 1.5, -7.0). Coordenadas estereotáxicas tomadas de Berman, 1968.

3.3.2.- Estimulación eléctrica en la médula espinal cervical.

En los cuatro experimentos en los que se estimularon las DC ipsilaterales, se colocaron dos electrodos bipolares paralelos (NE-200, Rhodes Medical Instruments Inc., USA) sobre la superficie dorsal de la médula espinal, separados entre sí por una distancia media de 29.0 mm, a nivel de C2 (distancia media desde el óbex: 27.5 mm) y C4 ($d = 56.5$ mm) con la ayuda de un microscopio de cirugía (OpMi-1, Carl Zeiss, Alemania). Se aplicaron estímulos eléctricos a una frecuencia de 1 – 50 Hz y se midió la diferencia entre las latencias de las respuestas inducidas por la estimulación desde uno y otro. Se calculó la velocidad de conducción de las fibras aferentes que llevan la información cutánea y propioceptiva hasta el CN principal.

Los electrodos de estimulación se fijaron a torres estereotáxicas (David Kopf Instruments, USA) para su colocación precisa en los diferentes planos anatómicos.

3.3.3.- Microestimulación eléctrica en el rvCN.

Utilizando el microscopio de cirugía, se colocaron dos electrodos (concéntricos SNE-100 o de tungsteno, ver *Apéndice I*), separados entre sí por 0.5 – 1.5 mm en el eje anteroposterior, en distintas posiciones a lo largo del rvCN: entre 0.5 y 3.0 mm anteriores al óbex, 1.5 y 4.0 mm laterales a la línea media y a una profundidad que osciló entre 800 y 1500 μ m. Cada electrodo, acoplado a un micromanipulador hidráulico (MO-8, Narishige, Japón), se conectó a su vez a un conmutador (HZP, Grass Technologies, Italia) que sirvió para alternar registro y estimulación, dependiendo de lo requerido por el protocolo experimental. Esto también permitió precisar su ubicación final, observando la actividad registrada en respuesta a la estimulación mecánica de la pata delantera ipsilateral.

Los pulsos de corriente aplicados a este nivel tuvieron una duración de entre 0.05 y 0.1 ms e intensidades de 50 a 150 μ A. De este modo se consiguió una estimulación eléctrica muy específica que provocó diferentes efectos sobre las neuronas propioceptivas del mvCN que serán expuestos y discutidos más adelante.

3.4.- Criterios de identificación de las neuronas de proyección al tálamo VPL

Latencia constante, seguimiento de estímulos a altas frecuencias y prueba de colisión

Las neuronas que envían su axón desde el mCN hacia el tálamo VPL (neuronas de proyección) se identificaron antidrómicamente mediante la estimulación eléctrica a nivel del ML contralateral. Esta técnica consiste en la aplicación de estímulos eléctricos en el axón, para inducir potenciales de acción que se transmiten en sentido antidrómico (desde el axón hacia el soma), activando directamente la neurona registrada sin la intervención de ninguna sinapsis. En este trabajo hemos considerado como antidrómica una respuesta que cumpla los siguientes criterios: 1) latencia constante, 2) respuesta a estímulos de alta frecuencia y 3) prueba de colisión.

1) Latencia constante.

Si se considera que la velocidad de conducción a lo largo de un axón es constante, la latencia de la respuesta inducida en el soma debe de ser prácticamente constante con respecto a una misma intensidad y un mismo punto de estimulación (Fig. 13B). La mayoría de los autores aceptan un valor de 100 μ s (Swadlow *et al.*, 1978) como intervalo de variabilidad máxima, aunque se ha demostrado que una respuesta antidrómica puede cumplir los otros dos criterios, aun presentando valores mayores de variabilidad de latencia. Cuando una célula se activa ortodrógicamente (a través de una o más sinapsis) la respuesta muestra, en general, una apreciable variación de latencia (Fig. 14B) que suele aumentar en proporción al número de sinapsis que forman parte de la vía que activa esa neurona. Cuando la latencia antidrómica es lo suficientemente corta como para no incluir un retardo sináptico (0.5 – 1.0 ms), la seguridad de realizar inequívocamente una identificación es mayor.

2) Respuesta a estímulos de alta frecuencia.

La capacidad para responder a la estimulación antidrómica de alta frecuencia (>100 Hz) generando una respuesta por cada estímulo aplicado debe depender, únicamente, del período refractario del axón estimulado (Fig. 13C). Por el contrario, cuando la célula se activa ortodrógicamente su capacidad para generar potenciales de acción depende de la eficacia sináptica y de la frecuencia de estimulación. De modo que, a frecuencias de estimulación que presenten intervalos entre estímulos de menor duración que el retardo de las sinapsis implicadas en esa conexión, no se generarán potenciales de acción en respuesta a cada estímulo (Fig. 14C).

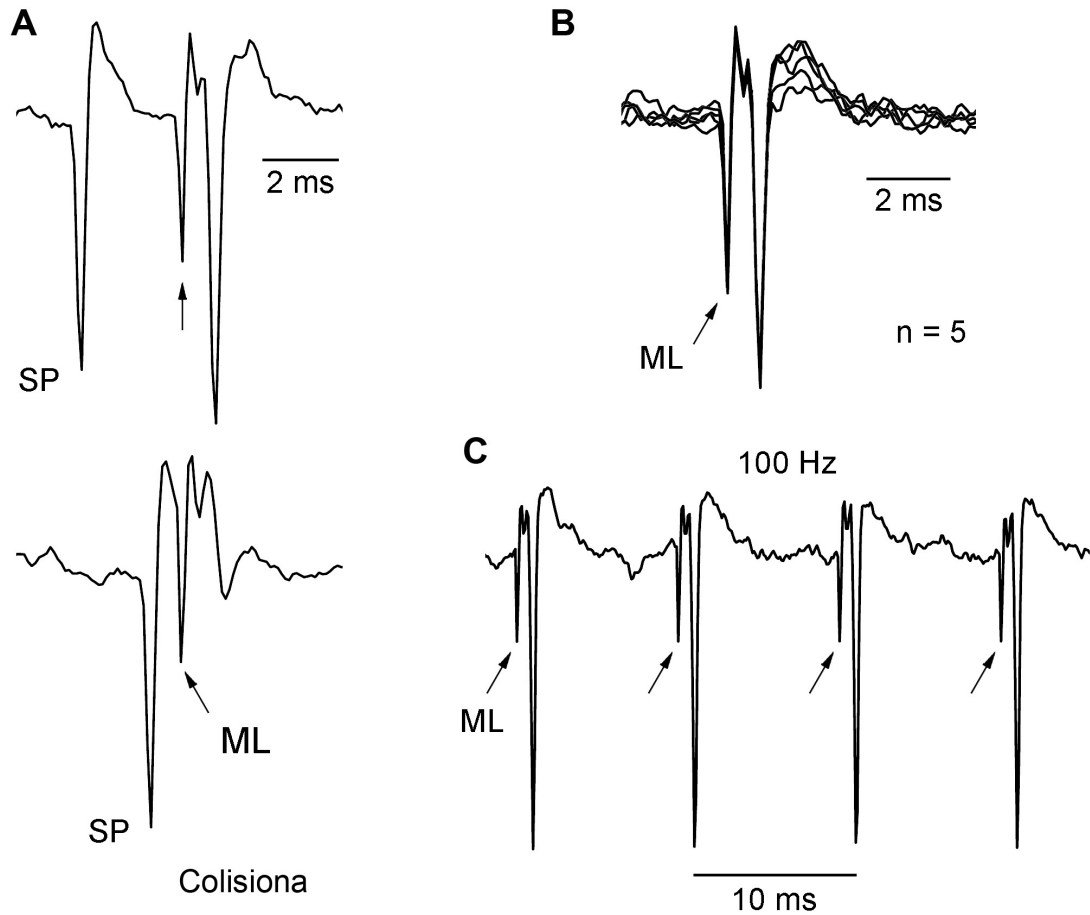


Figura 13. Identificación antidrómica. **A**, **B** y **C**, registros extracelulares de una neurona del mvCN que responde a la estimulación antidrómica en el lemnisco medial (ML). **A**: Colisión antidrómica (trazo inferior) entre una espiga espontánea (SP) y una inducida antidrómicamente al estimular el ML. Obsérvese cómo, en el trazo superior, la espiga espontánea no colisiona con la respuesta al ML al estar fuera del intervalo de colisión. **B**: Superposición de cinco potenciales de acción inducidos por la estimulación en el ML. El perfecto solapamiento de las espigas demuestra la constancia de la latencia de la respuesta. **C**: La célula responde fielmente a la estimulación eléctrica a alta frecuencia (100 Hz). Las flechas indican, en todos los casos, los artefactos generados por los estímulos eléctricos.

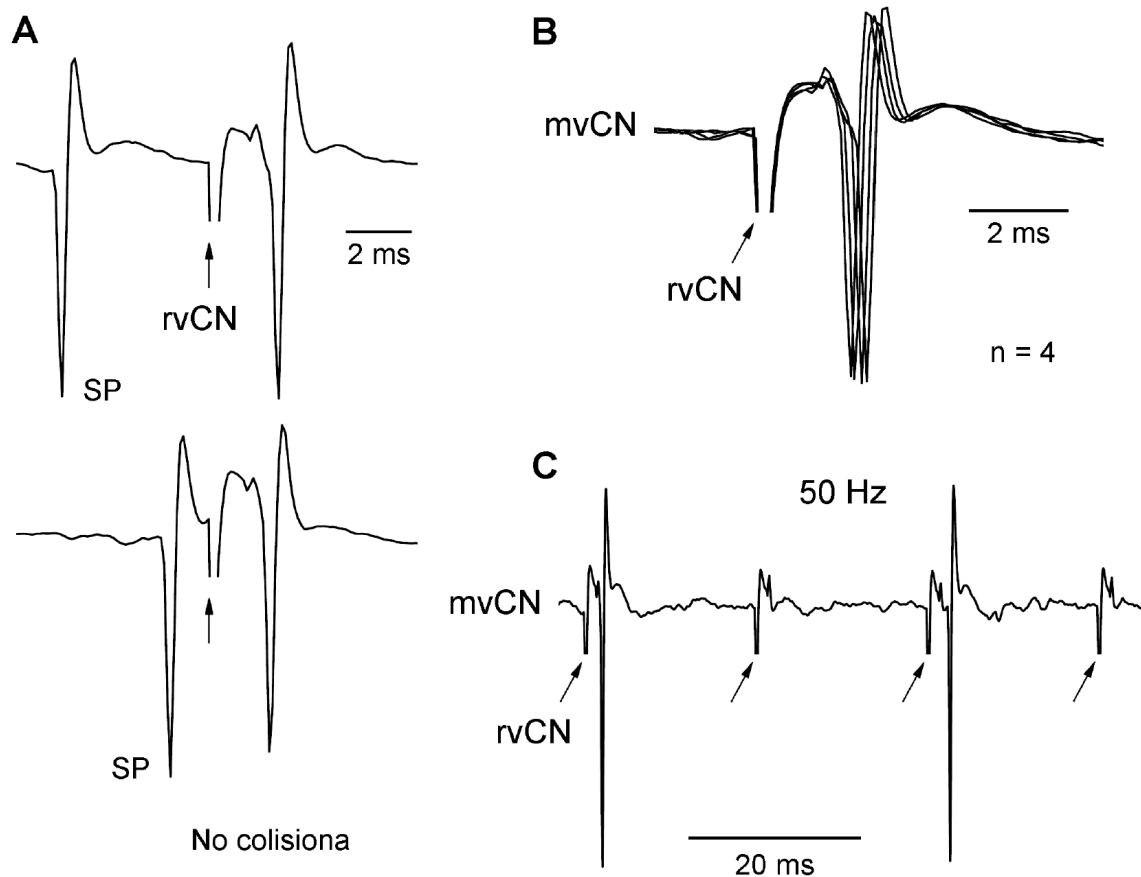


Figura 14. Identificación de las respuestas ortodrómicas. Respuestas ortodrómicas de una neurona del mvCN a la estimulación eléctrica en el rvCN. **A:** la respuesta inducida por la microestimulación eléctrica no colisiona con una espiga espontánea (SP; trazo inferior), a pesar de que esta se encuentra dentro del intervalo de colisión. **B:** la respuesta presenta una apreciable variación de latencia (superposición de 4 estímulos) y **C,** no sigue la estimulación a frecuencias altas (50 Hz).

3) Prueba de colisión.

Es el criterio más fiable para llevar a cabo la identificación antidrómica (Fuller y Schlag, 1976) aunque no siempre se puede realizar. Denominamos colisión a la extinción de un potencial de acción antidrómico que se desplaza por un axón cuando se encuentra con un potencial que se desplaza por ese mismo axón en sentido ortodrómico (Fig. 13A). El intervalo dentro del cual se observa dicha extinción se denomina *intervalo de colisión* (Swadlow, 1982), que es igual a la latencia antidrómica más el período refractario, menos el tiempo de utilización de la corriente (tiempo que tarda la corriente en variar la carga del condensador de membrana y alcanzar el umbral para la apertura de los canales de sodio dependientes de voltaje).

La técnica de la colisión antidrómica también se utilizó para estudiar las posibles proyecciones de una misma neurona hacia varias dianas, a través de colaterales axónicas. El fenómeno en este caso se denomina *colisión recíproca* y tiene lugar entre dos espigas inducidas por la estimulación antidrómica en dos ramas del mismo axón. En la figura 15 se muestra la colisión recíproca entre una espiga inducida por la estimulación del axón principal, en el ML, y la espiga generada en una colateral que termina o pasa a través del NRGc. Si las dos respuestas registradas en el soma colisionan, supondría la prueba de que la neurona proyecta a ambas estructuras.

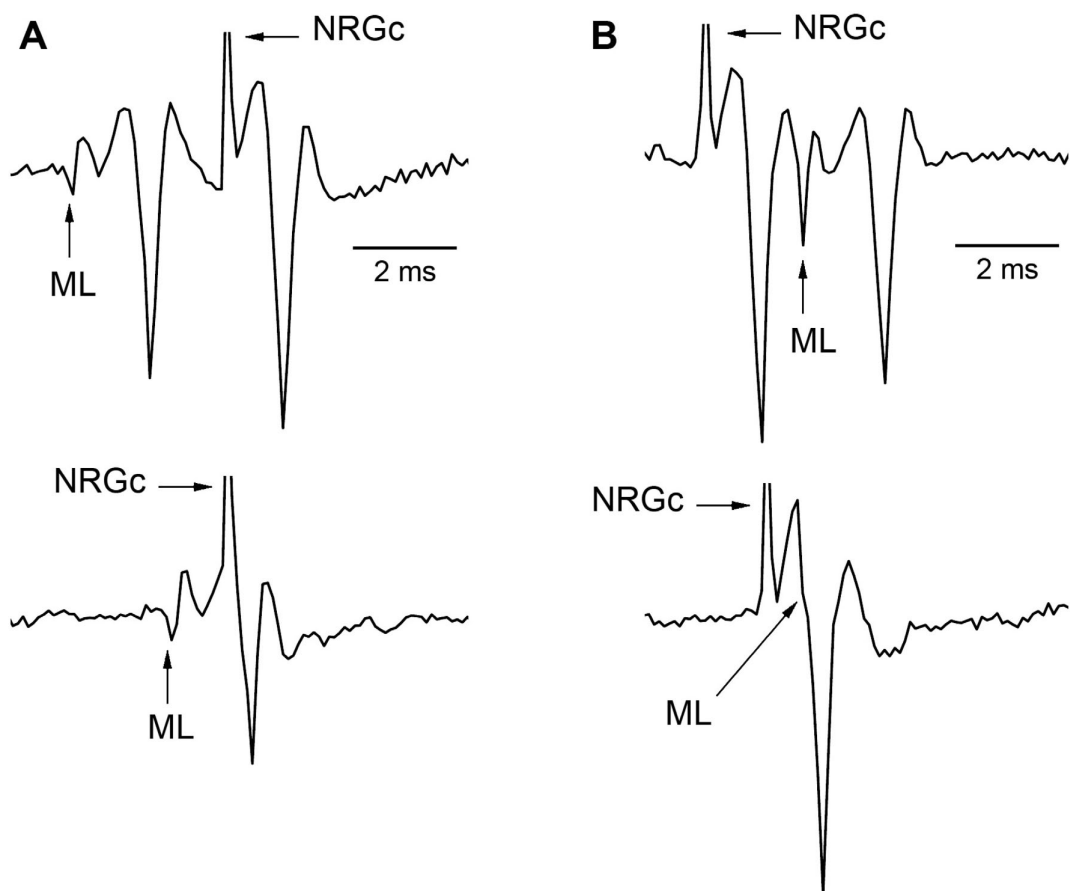


Figura 15. Colisión recíproca registrada en una neurona cuneolemniscal del mvCN. **A:** Colisión entre una espiga inducida por la estimulación antidrómica en el ML y otra en respuesta a la estimulación en una colateral que termina o pasa a través del NRGc. **B:** Colisión recíproca entre la espiga del NRGc y la inducida en el ML. Las flechas señalan los artefactos producidos por la estimulación eléctrica.

3.5.- Estimulación mecánica

Estiramiento pasivo, estimulación en rampa por presión, vibración

Los receptores fusales se activaron utilizando estímulos fisiológicos consistentes en el estiramiento pasivo del músculo. En todos los casos se mantuvo intacta la inervación y la musculatura de la pata delantera del animal, sin que se practicase ningún tipo de incisión ni siquiera a nivel cutáneo.

3.5.1.- Movimientos pasivos de las articulaciones.

El estiramiento se realizó mediante la flexión y extensión de las articulaciones que provocaron respuestas unitarias en las neuronas del mCN y del rCN. La actividad de las neuronas se mantuvo durante todo el rango de rotación de la articulación y las respuestas fueron unidireccionales. El incremento en la descarga sólo se produjo cuando la articulación se rotó en una dirección, mientras que un movimiento en la dirección opuesta, incluso de pequeña amplitud, provocó la supresión transitoria de la descarga. Las neuronas respondieron específicamente a estímulos propioceptivos ya que no se activaron con estímulos táctiles en la piel o el pelo ni con estímulos nocivos; descartándose así la intervención de aferencias de otras modalidades. En ocasiones, las articulaciones se mantuvieron en diferentes posiciones utilizando un aparato diseñado para tal fin en nuestro laboratorio. Fijando las articulaciones a diferentes ángulos se estudiaron los cambios en la frecuencia de descarga neuronal en cada una de las posiciones a lo largo del rango de desplazamiento de la articulación.

3.5.2.- Estiramientos en rampa y presión mantenida (*ramp-and-hold stretch*).

En otros casos el estiramiento se produjo aplicando presión sobre el músculo (siempre a través de la piel), mediante un estimulador Von Frey electrónico (IITC Life Science Inc., USA) o con una sonda de 200 μm de diámetro, acoplada a un estimulador vibrotáctil (BME Systems Inc., USA). En ambos casos el estímulo se aplicó sobre el área del músculo a la que la neurona registrada presentaba una mayor sensibilidad (presumiblemente sobre un huso muscular). La presión aplicada con el estimulador Von Frey no superó los 200 g. Los estiramientos mantenidos aplicados con el estimulador vibrotáctil consistieron en desplazamientos de la sonda que variaron entre 300 y 900 μm . Se realizaron desplazamientos con diferentes parámetros pero todos presentaron una fase inicial en forma de rampa de 0.1 – 0.5 s de duración (fase dinámica) en la que la presión se aplicó a una velocidad de 0.6 – 4.5 mm/s (Fig.

16) y una vez alcanzado el desplazamiento máximo se mantuvo la posición de la sonda durante 3 – 15 s (fase estática). Dependiendo de la amplitud del desplazamiento, la sonda ejerció una fuerza sobre el músculo que varió entre 20 y 50 g.

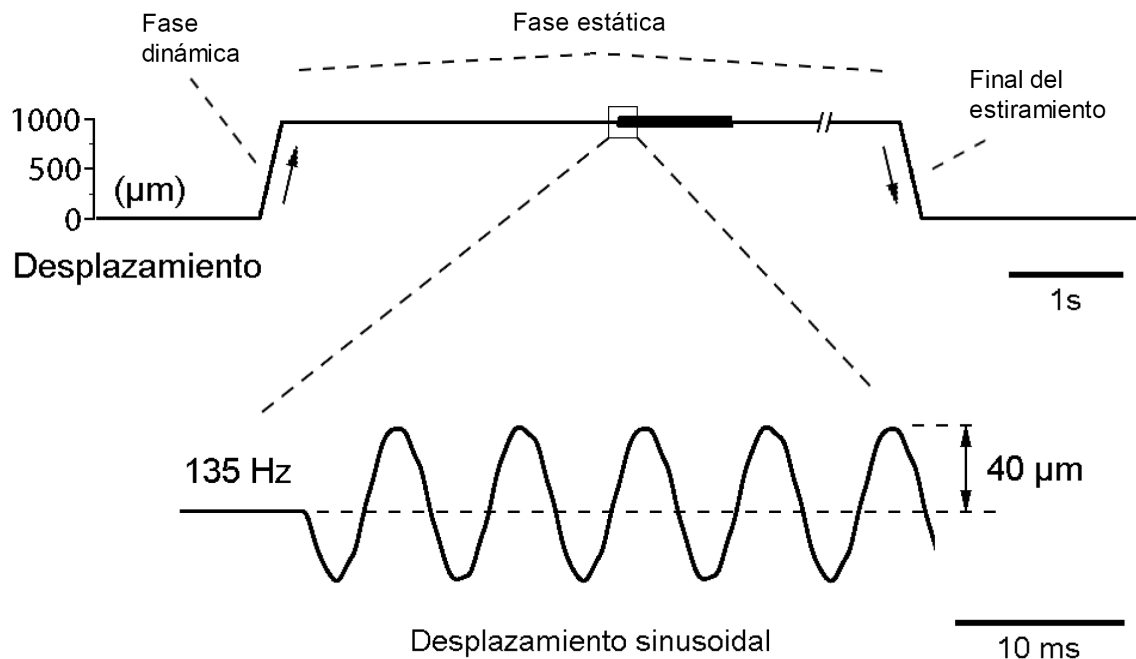


Figura 16. Esquema del protocolo de aplicación de estímulos en rampa y vibratorios. El trazo superior muestra el desplazamiento en rampa de la sonda utilizada para aplicar los estímulos de estiramiento (300 – 900 μm). La duración de las rampas fue de 0.1 – 0.5 s, aplicadas a una velocidad de 0.6 – 4.5 mm/s. El estiramiento se mantuvo 3 – 10 s y ejerció una fuerza de 25 – 50 g. Tres segundos después del final de la rampa, se aplicaron estímulos vibratorios sinusoidales a 135 Hz sobre la fase estática del estiramiento, durante 1 s. El trazo inferior muestra un detalle de los estímulos sinusoidales aplicados, con una amplitud de 80 μm de pico a pico.

3.5.3.- Estímulos vibratorios sinusoidales.

El estimulador vibrotáctil permitió, además, aplicar estímulos vibratorios de alta frecuencia sobre el estiramiento inicial (3 s después del final de la rampa), lo que hizo posible la identificación de las aferencias primarias (ver el apartado siguiente) y descartar respuestas procedentes de receptores cutáneos (Mackie *et al.*, 1998). Los estímulos consistieron en desplazamientos sinusoidales con una amplitud pico a pico de 80 μm , aplicados durante 1 s sobre la fase estática del estiramiento, a una frecuencia de 135 Hz.

El hecho de mantener el miembro en condiciones fisiológicas supuso una ventaja ya que evitó las alteraciones observadas en animales en los que se realizaron disecciones o denervaciones para aislar los músculos y nervios a estimular (Grigg, 1975; Dostrovsky *et al.*, 1976; Millar *et al.*, 1976; Loeb *et al.*,

1977; Tracey, 1979; Pettit y Schwark, 1993; Panetsos *et al.*, 1995, 1997). Estas alteraciones consisten en la reorganización de los campos receptores y la aparición de otros nuevos, que se observan a los pocos minutos de las intervenciones (Pettit y Schwark, 1993), y cambios en la actividad espontánea de las neuronas de los DCN. Por el contrario, conservar intacta la extremidad generó una dificultad añadida a la hora de localizar y estimular de manera efectiva las áreas en las que la respuesta al estiramiento era máxima. Una preparación en la que no se aisló ni denervó el músculo a estudiar (aunque sí se realizaron incisiones en la piel) ya había sido utilizada con éxito por Mackie y Rowe (1997) para identificar, estimulando específicamente y de forma “más fisiológica”, fibras aferentes individuales procedentes de los husos musculares de la pata delantera del gato. Para ello, utilizaron una sonda mecánica (200 μm de diámetro) con la que aplicaron presión mantenida o estímulos sinusoidales directamente en el foco de máxima sensibilidad (presumiblemente un huso muscular) que localizaron mediante la palpación con dicha sonda en diferentes puntos de un músculo que había sido expuesto, pero no aislado. Con esta preparación obtuvieron más registros unitarios (el estímulo aplicado con una sonda tan fina no se transmitía a otros husos vecinos) y con una relación señal-ruido mejor que la obtenida en experimentos en los que el estímulo se generó mediante el estiramiento longitudinal aplicado sobre los tendones aislados.

3.6.- Criterios de muestreo de las neuronas propioceptivas

Patrón de descarga, respuesta a estímulos vibratorios de alta frecuencia y respuesta a la administración de SCh. Diferenciación entre las neuronas del rCN y las del eCN

Todas las neuronas incluidas en el estudio presentaron el patrón de descarga característico de las células activadas por aferencias primarias de tipo *Ia* (Fig. 17), que inervan los receptores fusales. Para poder asegurar que las células registradas eran específicamente sensibles a este tipo de aferencias se utilizaron dos estrategias: inicialmente se identificaron las células propioceptivas por el patrón de descarga inducido por medio de la estimulación mecánica del campo receptor (mediante estiramientos y estímulos vibratorios) y con posterioridad se comprobó la idoneidad de los criterios aplicados estudiando, además, la respuesta a la administración intravenosa de SCh en cuatro experimentos realizados ex profeso.

3.6.1.- Patrón de descarga de las neuronas activadas por aferencias fusales de tipo Ia.

Las neuronas que reciben aferencias fusales presentan actividad espontánea en la mayoría de los casos, aunque ello depende del grado de estiramiento inicial al que del músculo. La descarga espontánea puede no estar presente cuando la articulación se encuentra en las posiciones extremas de flexión o de extensión.

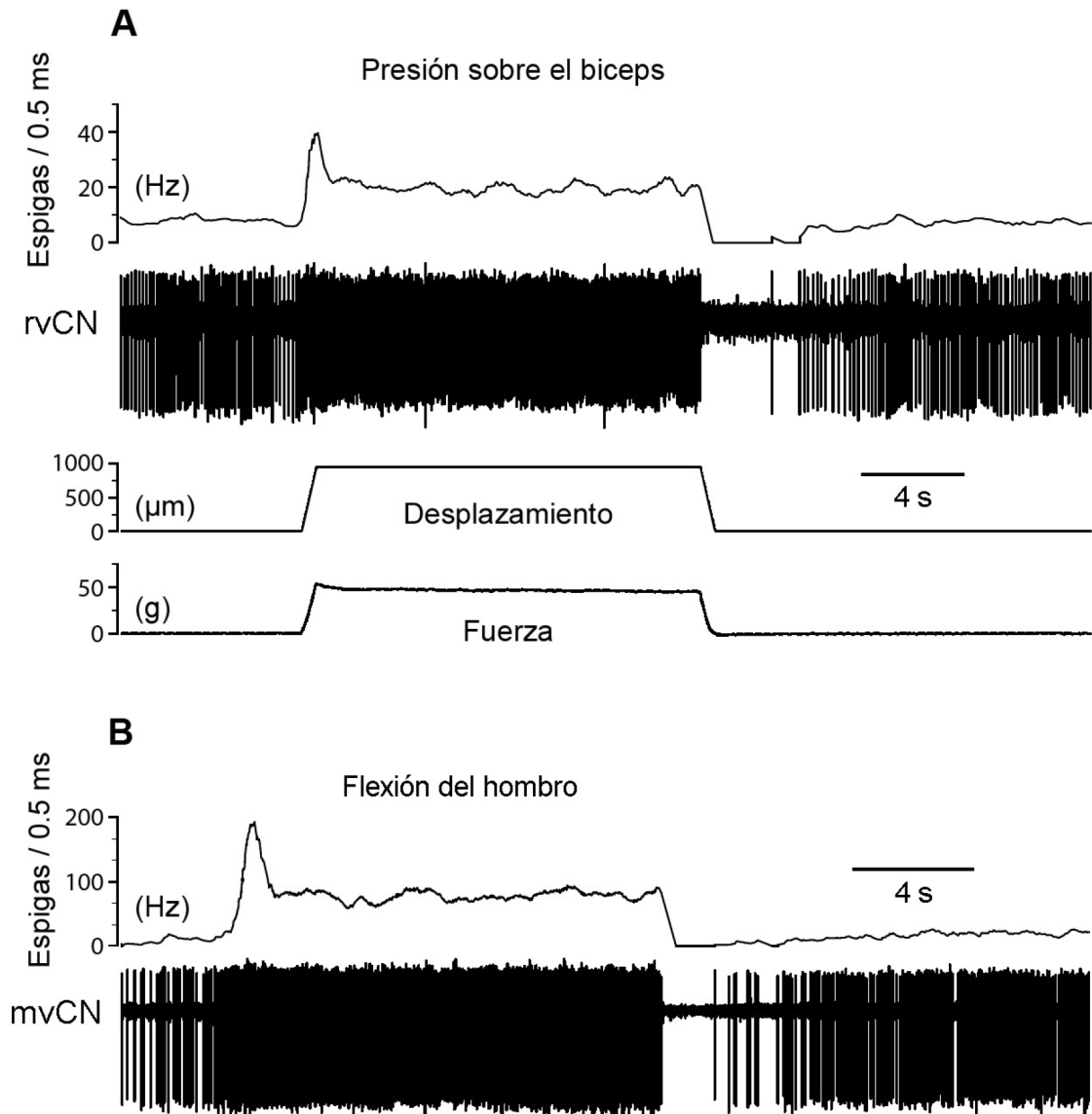


Figura 17. Registros de la respuesta a la estimulación mecánica en rampa con un estimulador vibrotáctil (**A**) y a la estimulación manual (**B**), de una neurona del rvCN y otra del mvCN respectivamente, ambas activadas por aferencias fusales. **A:** De arriba abajo: Frecuencia de descarga (Hz), obsérvese la ráfaga durante la fase dinámica y el silencio cuando finaliza el estiramiento; actividad unitaria registrada en el rvCN; desplazamiento mantenido de la sonda aplicado en rampa (µm); fuerza aplicada sobre el músculo (g). **B:** Frecuencia de descarga (Hz) y actividad unitaria de una neurona registrada en el mvCN que se activó mediante un estiramiento pasivo inducido por la flexión del hombro.

Las neuronas activadas por aferencias fusales presentan respuestas con un patrón de descarga característica y similar al de las fibras que las activan (ver apartado 1.6.1 de la *Introducción*). Únicamente se incluyeron en el estudio las neuronas que presentaron este tipo de descarga ante la estimulación propioceptiva.

3.6.2.- Respuesta a estímulos vibratorios de alta frecuencia.

Existen numerosos trabajos en los que se demuestra la idoneidad del uso de la vibración sinusoidal como estímulo específico para identificar las aferencias primarias procedentes de los receptores fusales (Brown *et al.*, 1967; Matthews y Stein, 1969; Stuart *et al.*, 1970; Mackie *et al.*, 1998) y diferenciarlas de las aferencias secundarias, que son muy poco sensibles a esta modalidad de estímulo. Por otro lado, los órganos tendinosos de Golgi no responden a estímulos vibratorios a menos que el músculo esté contraído (Brown *et al.*, 1967; Matthews y Stein, 1969; Stuart *et al.*, 1970). Por lo tanto, las neuronas propioceptivas que respondieron fielmente a estímulos vibratorios de alta frecuencia se consideraron activadas por aferencias primarias de tipo *Ia*. En la figura 18 se muestra un ejemplo de la respuesta de una neurona del mvCN a la vibración sinusoidal.

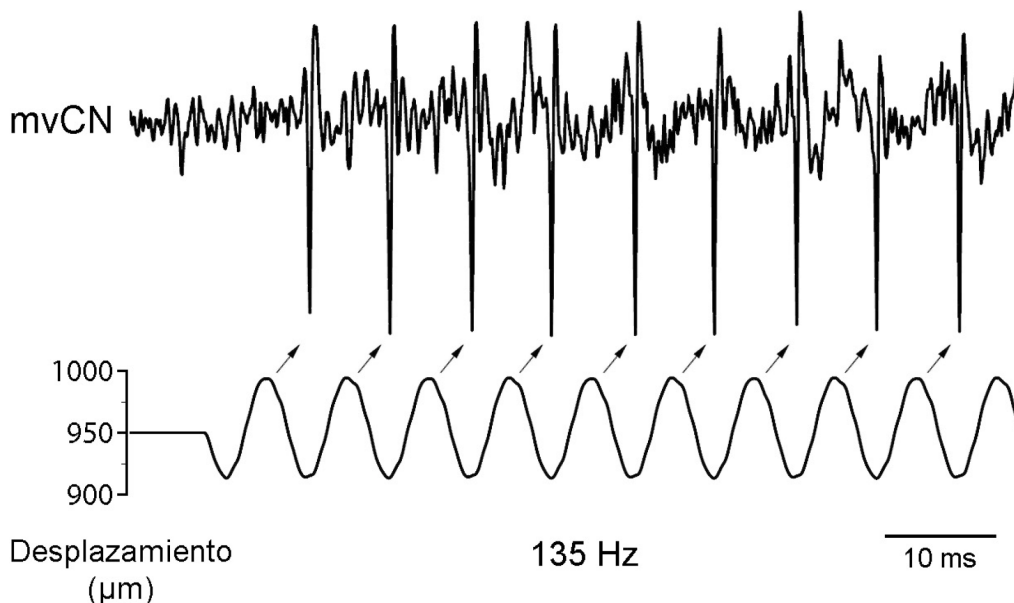


Figura 18. Respuesta a estímulos vibratorios sinusoidales. Registro de una neurona del mvCN respondiendo con una espiga por cada uno de los estímulos sinusoidales aplicados sobre un estiramiento mantenido aplicado en rampa (se muestra un ejemplo de protocolo en la Fig. 16). La vibración se aplicó durante 1 s a 135 Hz, 3 s después de la finalización de la rampa.

3.6.3.- Respuesta a la administración intravenosa de succinilcolina.

La SCh (cloruro de suxametonio) administrada mediante inyección rápida por vía intravenosa, produce un claro efecto estimulador sobre los receptores de estiramiento de los husos musculares (Brinling y Smith, 1960), lo que provoca el aumento de la frecuencia de la descarga espontánea (Fig. 19) y la inducida por la estimulación del campo receptor (Fig. 20; *Resultados*) en las neuronas del CN que reciben aferencias primarias procedentes del huso. Por lo tanto, aquellas neuronas que aumentaron su descarga tras la administración de SCh se clasificaron como inequívocamente propioceptivas y activadas por aferencias fusales primarias (Brinling y Smith, 1960; Oscarsson y Rosén, 1963; Taylor *et al.*, 1992a,b; Durbaba *et al.*, 2006).

La SCh (Sigma-Aldrich, MO, USA) se administró en bolos de 1 ml a una concentración de 300 – 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$, disuelta en solución salina fisiológica (Brinling y Smith, 1960; Taylor *et al.*, 1992a,b; Durbaba *et al.*, 2006). La administración del fármaco se realizó a través de una vena yugular mediante inyecciones rápidas (3 – 5 s) que se espaciaron entre 10 y 20 minutos para evitar la taquifilaxia (requerimiento de dosis cada vez mayores para producir los mismos efectos; Brinling y Smith, 1960).

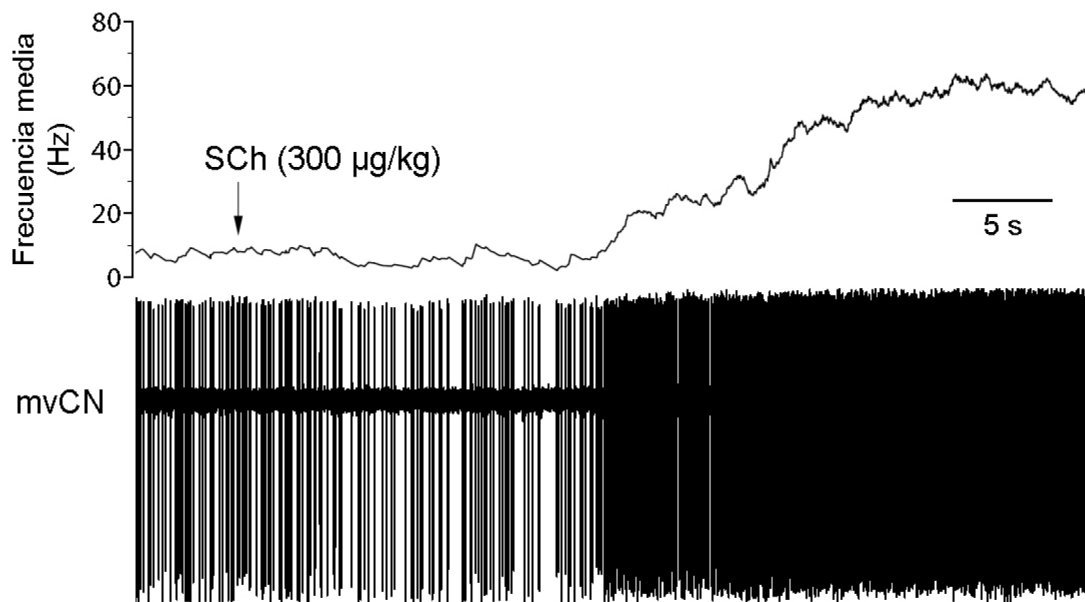


Figura 19. Registro extracelular de una neurona cuneolemniscal del mvCN, en el que se aprecia el efecto de la administración intravenosa de succinilcolina (SCh, 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$) sobre la descarga espontánea. Trazo superior, frecuencia de descarga media (Hz); trazo inferior, actividad unitaria. Segundos después de la inyección de la SCh, señalada con una flecha, la frecuencia de descarga aumentó alcanzando los 65 Hz, un incremento del 622% con respecto a la descarga espontánea (9 Hz). La longitud del músculo en el que se encontraba el campo receptor de la neurona permaneció invariable en todo momento.

Para cuantificar el efecto de la SCh se estudiaron los incrementos en la frecuencia inicial y la diferencia dinámica (el pico de frecuencia menos la frecuencia inicial), que son dos parámetros que determinan, respectivamente, la actividad estática y dinámica de las fibras aferentes fusales (Durbaba *et al.*, 2006).

3.6.4.- Diferenciación de las neuronas propioceptivas del núcleo *cuneatus* rostral frente a las del núcleo *cuneatus* externo.

Para delimitar el borde lateral del área de registro y poder asegurar que las neuronas propioceptivas registradas pertenecían al rCN y no al eCN, que se encuentra inmediatamente lateral a este, se colocó un electrodo de estimulación en el ICP ipsilateral (ver el *apartado* 3.3). Las neuronas propioceptivas del eCN envían sus axones al cerebelo a través del ICP formando el componente propioceptivo del tracto cuneocerebeloso (Cooke *et al.*, 1971a,b; Jasmin y Courville, 1987a). Por consiguiente, la estimulación del ICP se utilizó para diferenciar ambos núcleos.

3.7.- Técnicas de registro extracelular empleadas

Registro con electrodos de metal y micropipetas multicanal de vidrio

Se obtuvieron registros extracelulares unitarios y masivos que en 18 de los experimentos se realizaron de forma simultánea en distintas regiones del CN y en 8 de ellos, se combinaron con la eyección de diferentes fármacos mediante la técnica de la microiontoforesis (ver el *apartado* 3.7.2). La configuración del sistema de registro constaba de un seguidor de cátodo NL-100 hasta el que llegaba la señal que posteriormente se amplificó (NL104A-AC preamplifier, Digitimer Ltd., UK), se filtró entre 100 – 5000 Hz (NL125/6-Filter, Digitimer Ltd., UK) y finalmente se amplificó de nuevo (NL106-AC/DC amplifier, Digitimer Ltd., UK). De aquí la señal se envió simultáneamente hacia un sistema de audio (Digitimer Ltd., UK) y a un filtro que eliminó las frecuencias de 50 Hz y sus armónicos (Hum Bug, Quest Scientific, Canada), desde donde se envió paralelamente hacia un osciloscopio (Tecktronix, USA) en el que se mostraba la señal analógica y a una tarjeta digitalizadora CED 1401plus (CED Ltd., UK). De aquí la señal digital pasó a un ordenador donde se adquirió mediante el programa Spike2 a una frecuencia de muestreo de 10 – 20 kHz. Los datos de los canales de registro de la actividad de las neuronas propioceptivas se almacenaron en el disco duro para su análisis posterior.

Cada electrodo de registro se conectó a un seguidor de cátodo que, a su vez, se acopló a un microposicionador manual hidráulico (MO-8 o MO-10, Narishige, Japón) fijado a una torre estereotáxica (Mod. 1460, David Kopf Instruments, USA), lo que permitió su desplazamiento preciso en el eje dorso-ventral.

3.7.1.- Registro extracelular con electrodos de acero inoxidable y tungsteno.

Para el registro de la actividad cortical a nivel de la corteza somatosensorial se empleó un electrodo bipolar de acero inoxidable, de tipo concéntrico, con una resistencia inferior a 1 M Ω (NE-100x, Rhodes Medical Instruments Inc., USA). Se colocó de forma visual en la intersección entre la corteza somatosensorial primaria (SI) y la MI, un milímetro lateral al extremo del surco *cruciatu*s. Para realizar registros masivos y unitarios en el rCN se utilizaron electrodos concéntricos de menor diámetro (SNE-100x, Rhodes Medical Instruments, USA), que sirvieron también para aplicar microestimulación eléctrica, como ya se ha expuesto en el *apartado 3.3.1* de esta sección. Para registrar la actividad individual de las neuronas se utilizaron electrodos de tungsteno con una resistencia de entre 10 y 12 M Ω (AM Systems Inc., USA; o FHC Inc., USA). En algunos experimentos se aplicó microestimulación eléctrica a través de estos electrodos (ver el *apartado 3.3.3*).

El mapeo en el mCN se realizó tomando como referencia el óbex y abarcó desde ese punto hasta 3.0 mm posterior y entre 1.0 y hasta 3.5 mm lateral (a la altura del óbex). El electrodo se posicionó en la superficie del tejido con la ayuda de un microscopio quirúrgico.

3.7.2.- Registro extracelular combinado con microiontoforesis a través de micropipetas de vidrio de varios canales.

Se realizaron 8 experimentos de registro simultáneo en el mvCN y en el rvCN en los que la actividad unitaria de las neuronas del mvCN se registró a través de electrodos de vidrio de cuatro o seis canales, fabricados en nuestro laboratorio. Las multipipetas, además de registrar la actividad neuronal, permitieron la aplicación local de diferentes fármacos mediante la técnica de la microiontoforesis, que hace posible el estudio del efecto de los fármacos sobre la actividad de la neurona que se está registrando.

El fundamento de esta técnica está basado en la capacidad de eyectar moléculas polarizadas de fármacos aplicando una corriente del mismo signo que la carga que presentan sobre la solución en la que están disueltas. De igual

modo, se puede retener la sustancia en el interior de la pipeta aplicando corriente de signo opuesto, evitando así su salida por difusión. Las corrientes de eyección o de retención se aplicaron mediante una bomba de microiontoforesis (NeuroPhore BH2 System, Harvard Apparatus, USA) conectada al canal del electrodo a través de un electrodo fino clorado de plata.

Los electrodos utilizados en este trabajo estaban formados por cuatro o seis canales y se fabricaron de forma manual con capilares de vidrio (FMG15 o FLG15, Dagan Corporation, USA) con un diámetro interno de 0.85 o 1.20 mm y externo de 1.5 mm. Los capilares se estiraron en un estirador vertical (PE-2, Narishige, Japón) de manera que se consiguieron pipetas múltiples de punta muy fina y cerrada, que se rompieron bajo el microscopio para conseguir el diámetro adecuado para obtener registros unitarios. El diámetro total de la punta de las multipipetas utilizadas fue de 4 – 6 μm para las de cuatro canales y de 6 – 9 μm para las de seis canales. (En el *Apéndice II* se muestra una descripción más detallada del proceso de *fabricación de las multipipetas de vidrio*).

El canal que se utilizó para registro se cargó con una solución 3.0 M de NaCl, el utilizado para balancear la corriente aplicada se rellenó con el vehículo que sirvió para disolver los fármacos (agua Milli-Q) y los canales restantes se cargaron con los diferentes fármacos. Las sustancias eyectadas fueron el GABA, la Gly, la bicuculina (Bicu; antagonista específico de los receptores GABA_A) y la estricnina (Stry; antagonista de los GlyRs).

Todos los fármacos se disolvieron en solución acuosa y se ajustó el pH con HCl y NaOH. En la tabla que aparece a continuación se resumen las características de las soluciones y los parámetros de la corriente utilizada en cada caso.

Fármaco	Concentración	pH	Corriente de eyección (nA)	Signo de la corriente	Corriente de retención (nA)
GABA	1 M	4.0	0 – 25	+	- 20
Bicuculina	20 mM	4.0	10 – 75	+	- 20
Glicina	1 M	4.0	0 – 25	+	- 20
Estricnina	10 mM	5.5	10 – 75	+	- 20

Tabla 1. Características de las soluciones de los fármacos y los parámetros de la corriente utilizada. Todos los fármacos se disolvieron en agua Milli-Q y el pH se ajustó con HCl y NaOH. *Fármacos suministrados por Sigma-Aldrich, España.*

3.7.3.- Registros extracelulares simultáneos en el rCN y en el mCN.

En 18 de los experimentos se realizaron registros simultáneos en diferentes regiones del CN, utilizando electrodos metálicos (de acero o tungsteno) en el rCN y de tungsteno o multipipetas de vidrio en el mCN.

En el rCN se ubicaron uno o dos electrodos de tungsteno o concéntricos de acero (ver el *apartado 3.3.3*) a través de los cuales se obtuvieron registros unitarios o masivos. Estos electrodos se acoplaron a sendos micromanipuladores manuales para permitir su movimiento de forma independiente y precisa.

En el mCN se obtuvieron registros unitarios a través de electrodos de tungsteno o multipipetas de vidrio, por las que se eyectaron distintos fármacos que modificaron la actividad de las neuronas estudiadas (*apartado 3.7.2*).

Se obtuvieron diferentes combinaciones de registros dobles que serán expuestos y descritos en la sección de *Resultados*.

3.8.- Marcaje de los lugares de estimulación y de registro por medio de lesiones electrolíticas

Una vez finalizado el proceso de recogida de datos, se procedió al marcaje de las regiones en las que se realizaron los registros y de los lugares de estimulación. De este modo se verificó, a posteriori, la correcta ubicación de los mismos. Las marcas consistieron en lesiones electrolíticas realizadas con un sistema electroforético (BA5011, Kation Scientific, USA) y pasando corriente continua de 6 μ A a través de los electrodos, durante 6 – 15 s, dependiendo del tipo de electrodo utilizado y de las características del tejido en el que estuviese ubicado.

3.9.- Perfusión, extracción y sección del tejido nervioso

Una vez realizado el marcaje se procedió a la preparación del animal para la perfusión y posterior extracción del tejido. El proceso comienza con la inyección de 5000 UI de heparina sódica por vía intravenosa. Tras unos minutos el animal se desconectó de la bomba de ventilación y rápidamente se le realizó una canulación intracardíaca a través de la cual se perfundió la parte anterior del cuerpo, después de haber pinzado la aorta descendente a nivel del mediastino. La perfusión se realizó con 3.0 litros de solución salina 0.9% (pH 7.4), con 5% de nitroprusiato sódico (un agente vasodilatador; Sigma-Aldrich, España) y 25000 UI de heparina. A continuación se fijó el tejido perfundiéndolo

con 2.0 litros de paraformaldehído al 4% en solución salina (Sigma-Aldrich, España). Una vez fijado, se procedió a la extracción del tejido que se mantuvo en la misma solución durante unos días para lograr su completa fijación, tras los cuales se congeló y cortó a -21 °C en un microtomo criostato (HM 500 OM - Microm, Alemania), obteniéndose secciones coronales de 70 µm de grosor que se colocaron en portaobjetos previamente gelatinizados.

La perfusión de los dos animales utilizados en el estudio inmunohistoquímico se realizó con soluciones específicas cuyas características se detallan más adelante.

3.10.- Tinción de los cortes y obtención de microfotografías

Una vez que los cortes estuvieron secos y completamente adheridos a los portaobjetos, se llevó a cabo un protocolo de tinción simple que nos permitió diferenciar las estructuras y localizar, con mayor fiabilidad, la posición que ocupaban los electrodos. Los colorantes utilizados fueron el rojo neutro y la tiónina, que tiñen los corpúsculos de Nissl marcando las neuronas de rojo o violeta, respectivamente. Los cortes una vez teñidos, se cubrieron con un cubreobjetos y resina de montaje (DePeX, VWR International Ltd., UK). Finalmente, se fotografiaron las secciones con una cámara digital (DS Fi1, NIKON, Japón) acoplada a un microscopio óptico (Eclipse E800, NIKON, Japón) obteniéndose microfotografías a 1 y 10x aumentos. (*Los protocolos de tinción se muestran en el Apéndice III*).

3.11.- Inmunohistoquímica para la localización de los receptores de glicina

En los experimentos en los que se empleó la microiontoforesis, se observó cómo la Gly inhibía la actividad espontánea y/o inducida eléctrica y mecánicamente de las neuronas propioceptivas del mvCN, siendo este efecto revertido por la Stry (ver *Resultados*). El efecto inhibitorio mediado por los GlyRs y eliminado por la Stry, su antagonista competitivo (Young y Snyder, 1973), es generado por el aumento en la conductancia al Cl⁻¹ a través de canales dependientes de ligando, lo que provoca la hiperpolarización de la membrana postsináptica (Bormann *et al.*, 1987). El sitio de unión para la Stry en el GlyR está presente en todas las variantes de la subunidad α ($\alpha 1 - \alpha 4$) que constituyen las diferentes isoformas del receptor (Becker, 1992). El hecho de que la sensibilidad a la Stry indique la presencia del GlyR, y por ende de las subunidades α , permite comprobar si las neuronas del CN principal que

presentan GlyRs están distribuidas de forma diferente en las distintas regiones del núcleo, y así comparar la zona de agregados con el rCN y/o el mvCN. Para este estudio se utilizaron dos gatos macho de 3.5 kg que se sedaron inicialmente con ketamina (30 mg/kg, i.m.), se anestesiaron con pentobarbital sódico (60 mg/kg, i.v.) y se perfundieron intracárdicamente con 2.0 litros de una solución de NaCl al 0.9% y 3.0 litros de paraformaldehído al 4% en PBS (tampón fosfato salino, pH 7.4). Los cerebros y las médulas se extrajeron rápidamente, se tallaron, se mantuvieron en postfijación durante 4 horas en la misma solución de paraformaldehído al 4% a 4 °C y se crioprotegieron en una solución de sacarosa al 30% durante varios días. Tras este tiempo se obtuvieron secciones coronales de 50 µm de grosor, que se almacenaron a 4 °C hasta su uso en una solución de glicerol al 30% en PBS. El procesamiento de los cortes para el marcaje inmunohistoquímico se realizó según lo descrito previamente por Darstein *et al.* (2000). Las secciones se lavaron tres veces con PBS y se pretrataron con 0.3% de H₂O₂ en PBS durante 10 minutos, para inhibir las peroxidasa endógenas que se bloquearon con una mezcla de suero normal de caballo al 2.5%, Tritón X-100 al 0.3% y un 1% de seroalbúmina bovina en PBS durante 1 hora a temperatura ambiente. Seguidamente las secciones se lavaron con PBS y se incubaron durante dos días a 4 °C con el anticuerpo de ratón anti-GlyR mAb4a, a una dilución 1:1000 en PBS con suero de caballo al 2.5%, Tritón X-100 al 0.2% y un 1% de seroalbúmina bovina (Synaptic Systems, Alemania). Tras este paso, se lavaron con PBS y se incubaron a temperatura ambiente durante 40 minutos con un anticuerpo biotinilado anti-ratón a una dilución 1:400 (Vector Laboratories Inc., USA). El marcaje inmunohistoquímico se reveló utilizando el complejo avidina-biotina-peroxidasa y 3,3'-diaminobencidina tetrahidroclorada (DAB); (Vector Laboratories Inc., USA). Se añadió sulfato de níquel amónico a la solución de DAB para generar un marcaje de intenso color negro azulado. A continuación, las secciones se montaron en portaobjetos gelatinizados, se deshidrataron en una batería de alcoholes de diferente gradación, se aclararon con xileno y se cubrieron con DePex. Se procesaron algunas secciones control, para determinar el marcaje inespecífico, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente pero omitiendo el anticuerpo primario. Las secciones se visualizaron, analizaron y fotografiaron (10, 20, 40x) con el microscopio óptico y la cámara digital. Las mediciones y los conteos se realizaron en cuatro secciones coronales en cada uno de los niveles rostro-caudales estudiados. Las partes dorsal y ventral del mCN y del rCN de ambos lados de cada sección, se analizaron con la ayuda de un programa de análisis

de imagen (NIS-D Elements, NIKON, España). Se determinó el número y el tamaño de aquellas neuronas que presentaron marcado el GlyR.

3.12.- Tratamiento estadístico

A las medias de los datos obtenidos en situaciones control y los obtenidos en presencia de los fármacos, así como a las medias de las velocidades de conducción, se le aplicaron las herramientas estadísticas apropiadas en cada caso, pudiendo ser un test paramétrico (Test de la *t*) o no paramétrico (*U* de Mann-Whitney). Los valores de las medias se representaron como Media \pm Desviación estándar de la media (SD) o Error estándar de la media (SEM), según se indica en cada caso. Se consideró como estadísticamente significativo un valor de probabilidad de $P < 0.05$.

Para analizar las diferencias de tamaño de las células marcadas en el estudio inmunohistoquímico y su densidad por unidad de superficie en las distintas regiones estudiadas, se empleó un ANOVA de una vía no paramétrico (Kruskal-Wallis) seguido de un análisis *post hoc* (test de comparación múltiple de Dunn). Se consideró como estadísticamente significativo un valor de $P < 0.05$.

4.- RESULTADOS

Los resultados que se describen a continuación se obtuvieron a partir del estudio de 240 neuronas propioceptivas, activadas por aferencias musculares de origen fusar. Del total de las neuronas estudiadas, 183 se registraron en el mCN y las 57 restantes en el rCN. La identificación de las neuronas se realizó teniendo en cuenta sus respuestas a estímulos mecánicos y, posteriormente, se corroboró con la administración de SCh (*apartado 4.1*). Se estudió la distribución de las células registradas en las diferentes regiones del CN (*apartado 4.2*) y su respuesta al estiramiento mantenido generado por la posición de la articulación activadora o la aplicación de presión continua sobre el músculo (*apartado 4.3*). Se estudiaron las respuestas de las neuronas del mvCN a la estimulación eléctrica del ML y de estructuras reticulares (NRGc y MLR; *apartado 4.4*), y se compararon las velocidades de conducción antidrómica y la de las aferencias primarias propioceptivas y cutáneas (*apartado 4.5*). Se estudió el efecto de la microestimulación eléctrica en el rCN sobre las neuronas propioceptivas del mvCN (*apartado 4.6*) y se realizaron registros simultáneos en el rCN y en el mvCN (*apartado 4.7*). Se estudiaron los efectos de la eyección microiontóforética de GABA y de Gly sobre la actividad de las neuronas propioceptivas del mvCN (*apartado 4.8*) y, finalmente, se estudió la distribución de los GlyRs en los DCN mediante técnicas inmunohistoquímicas (*apartado 4.9*).

4.1.- Identificación de las neuronas propioceptivas

Respuesta a estímulos mecánicos y a la succinilcolina, clasificación de las fibras aferentes

El primer paso para la realización del estudio consistió en la localización dentro del CN principal de las neuronas propioceptivas activadas por aferencias fusales. Para el muestreo e identificación se empleó la estimulación mecánica como estímulo buscador. El estiramiento del músculo se indujo mediante movimientos pasivos de las articulaciones, a los que las 240 neuronas estudiadas respondieron con la actividad característica de las células activadas por aferencias fusales de tipo *Ia*: una ráfaga durante la fase dinámica, frecuencia de descarga mantenida durante la fase estática y silencio al finalizar el estiramiento (Figs. 17B, 20D, 35, 36A2, B1; descripción detallada del patrón de descarga en el *apartado 1.6.1; Introducción*). Ninguna de las neuronas identificadas como propioceptivas respondió a estímulos cutáneos (soplidos de aire, tacto o presión suave) aplicados en la superficie de la pata delantera. En los 3 primeros experimentos, además de los movimientos pasivos, también se

emplearon otros estímulos mecánicos que inducen respuestas características de las neuronas propioceptivas. Se aplicaron estímulos en rampa sobre 20 células que habían sido previamente activadas por los movimientos pasivos, y respondieron en todos los casos con el patrón típico de las células activadas por aferencias de tipo *Ia* (ejemplos en las Figs. 17A, 26E, 42). Además, a 16 de ellas se les aplicaron estímulos vibratorios (135 Hz) durante la fase estática del estiramiento, a los que todas respondieron fielmente con una respuesta 1:1 (ejemplo en la fig. 18; *Materiales y métodos*) y se estudiaron las respuestas de otras 18 neuronas al estiramiento mantenido (ver el apartado 4.3; Figs. 25 y 26). Debido a la eficacia demostrada por estos resultados, en los restantes experimentos se empleó el muestreo mediante movimientos pasivos como herramienta para la identificación de las neuronas propioceptivas.

Posteriormente, para corroborar que la identificación basada en la respuesta a la estimulación mecánica es un método adecuado y específico de discriminación de las neuronas propioceptivas, se realizaron cuatro experimentos en los que se estudió la activación específica de los receptores intrafusales, mediante la administración intravenosa de SCh (ver el apartado 3.6.1 de *Materiales y métodos*). Una vez que la neurona se identificó como propioceptiva por su respuesta a la estimulación mecánica, se administró un bolo de SCh (300 – 500 µg/kg) por vía intravenosa que provocó en todos los casos estudiados (n = 12) incrementos de hasta un 600% en la actividad espontánea (Fig. 20A, B y Fig. 19) y hasta un 155% en la descarga inducida por la estimulación mecánica (Fig. 20C, D), confirmando el origen fusar de las aferencias que activaban las células registradas. Además, este procedimiento permitió clasificar el tipo de aferencia fusar que activaba cada una de las células estudiadas. En 6 de las 12 neuronas se produjo un gran incremento (250 – 600%) en la actividad espontánea en reposo, sin que se observasen cambios en la respuesta dinámica al estiramiento (se muestran dos ejemplos en la Fig. 20A, B). Otras 4 células presentaron un incremento moderado en la frecuencia de descarga basal en reposo (75 – 83%) y aumentaron claramente la respuesta durante la fase dinámica del estiramiento (95 – 155%) (Fig. 20C).

Las 2 células restantes mostraron un pequeño incremento en la actividad basal del 29 y 31%, un claro aumento de la descarga durante la fase dinámica del estiramiento del 90 y 85%, respectivamente, y un marcado silencio cuando el músculo retornó a la posición inicial (Fig. 20D). De acuerdo con estos datos, las seis primeras neuronas estarían activadas por fibras aferentes fusales estáticas (b_2c), las otras cuatro por fibras de tipo dinámico/estático (b_1b_2c) y dos por aferentes primarias fusales de tipo dinámico (b_1c) (Tabla 2).

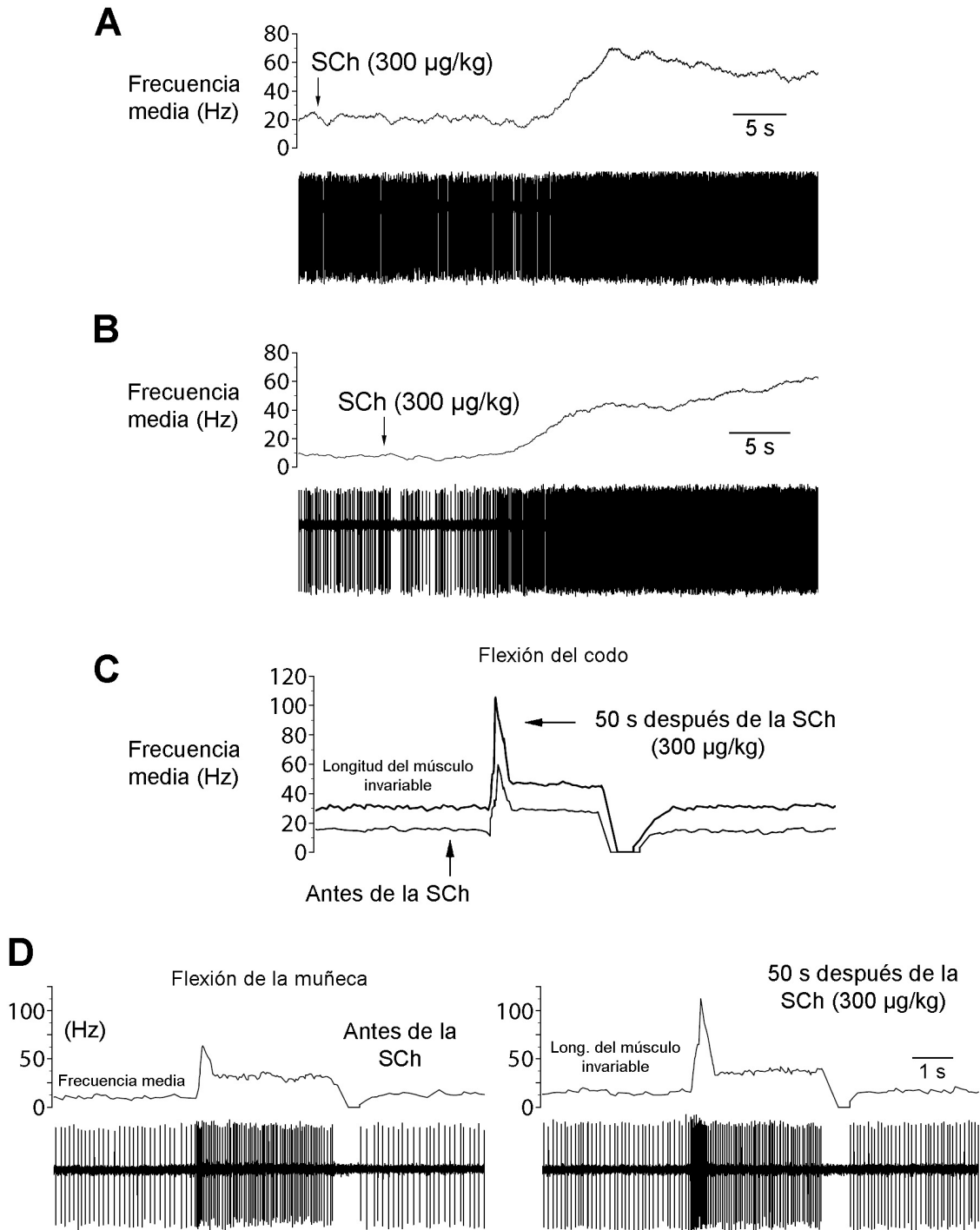


Figura 20. Respuesta de las neuronas del mvCN a la administración intravenosa de SCh. **A – D**, muestran el comportamiento de cuatro células diferentes. **A** y **B**: la administración de SCh aumentó notablemente la descarga espontánea, aunque la longitud del músculo permaneció invariable. **C**: en otra célula del mvCN aumentaron tanto la actividad espontánea como la respuesta dinámica a la flexión del codo, tras la inyección de SCh. **D**: ejemplo de otra célula que mostró un importante incremento en la descarga durante la fase dinámica de la flexión de la muñeca, mientras que sólo experimentó un ligero aumento en la actividad espontánea.

Células estudiadas	Tipo de fibra aferente		
	b_1b_2c	b_1c	b_2c
12	4	2	6

Tabla 2. Identificación de las aferencias fusales mediante la administración de succinilcolina. Las neuronas estudiadas respondieron a la administración de 300 – 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de SCh, aplicada mediante una inyección rápida en la vena yugular (ver *sección 3.6.3; Materiales y métodos*).

4.2.- Distribución de las neuronas propioceptivas

Localización y distribución basada en las características del campo receptor

4.2.1.- Localización espacial de las neuronas propioceptivas.

Las neuronas se localizaron mediante mapeo del CN principal, abarcando desde posiciones situadas 4.0 mm caudales al óbex y hasta 3.5 mm laterales en el mCN, y 4.5 mm anteriores al óbex y 4.0 laterales en el rCN. En la figura 21 se muestran tres cortes coronales del bulbo caudal, los dos primeros realizados a nivel del rCN (paneles A y B), a 2.0 y 3.0 mm por delante del óbex, y el tercero 2.0 mm por detrás del óbex (panel C). Las secciones presentan lesiones electrolíticas, marcadas con flechas, en los lugares en los que se localizaron algunas de las neuronas estudiadas y, en el caso del rCN, donde además se aplicó la microestimulación eléctrica (*apartado 3.3.3; Materiales y métodos*). Se identificaron un total de 240 neuronas propioceptivas, 183 en el mCN y 57 en el rCN. Las células registradas en el rCN se encontraron a una profundidad de 1.2 ± 0.10 mm (media \pm SEM) medida desde la superficie, mientras que las del mCN se localizaron más profundas, a 1.7 ± 0.08 mm (Fig. 21; panel D).

La distribución espacial de las células registradas en el rCN y en el mCN se ilustra en la figura 22. Las neuronas propioceptivas localizadas en el mCN se concentraron entre el óbex y hasta 2.5 mm en sentido caudal, y en el rCN se distribuyeron de forma dispersa y homogénea llegando hasta 4.0 mm por delante del óbex (Fig. 22). El 93.44% de las neuronas propioceptivas registradas en el mCN (171/183) se localizaron en el mvCN, mientras que sólo un 6.56% (12/183) se registraron en el mdCN. En el rCN las neuronas propioceptivas también fueron más abundantes en la parte ventral (39/57; 68.42%), aunque las registradas en el rdCN (18/57; 31.58%) se encontraron en mayor proporción que en el mdCN (Fig. 22A, B y Tabla 3).

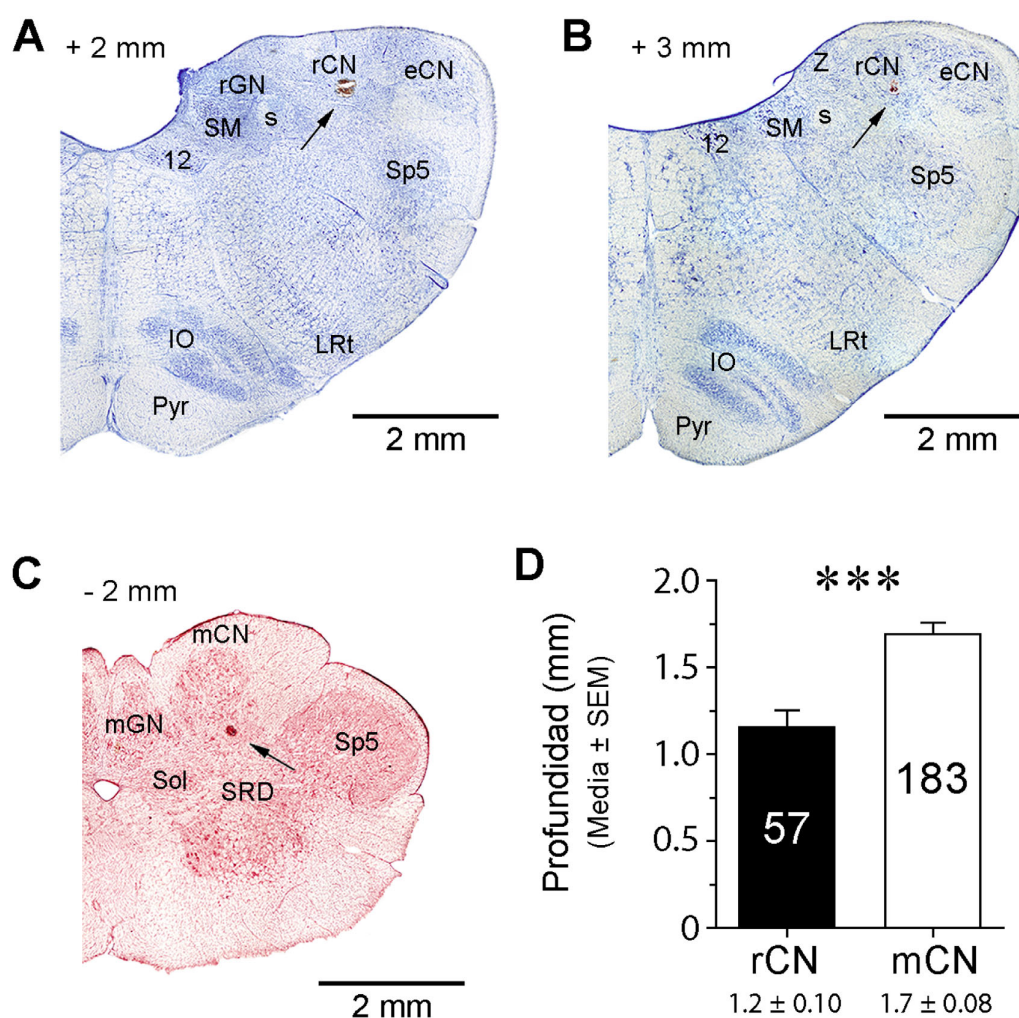
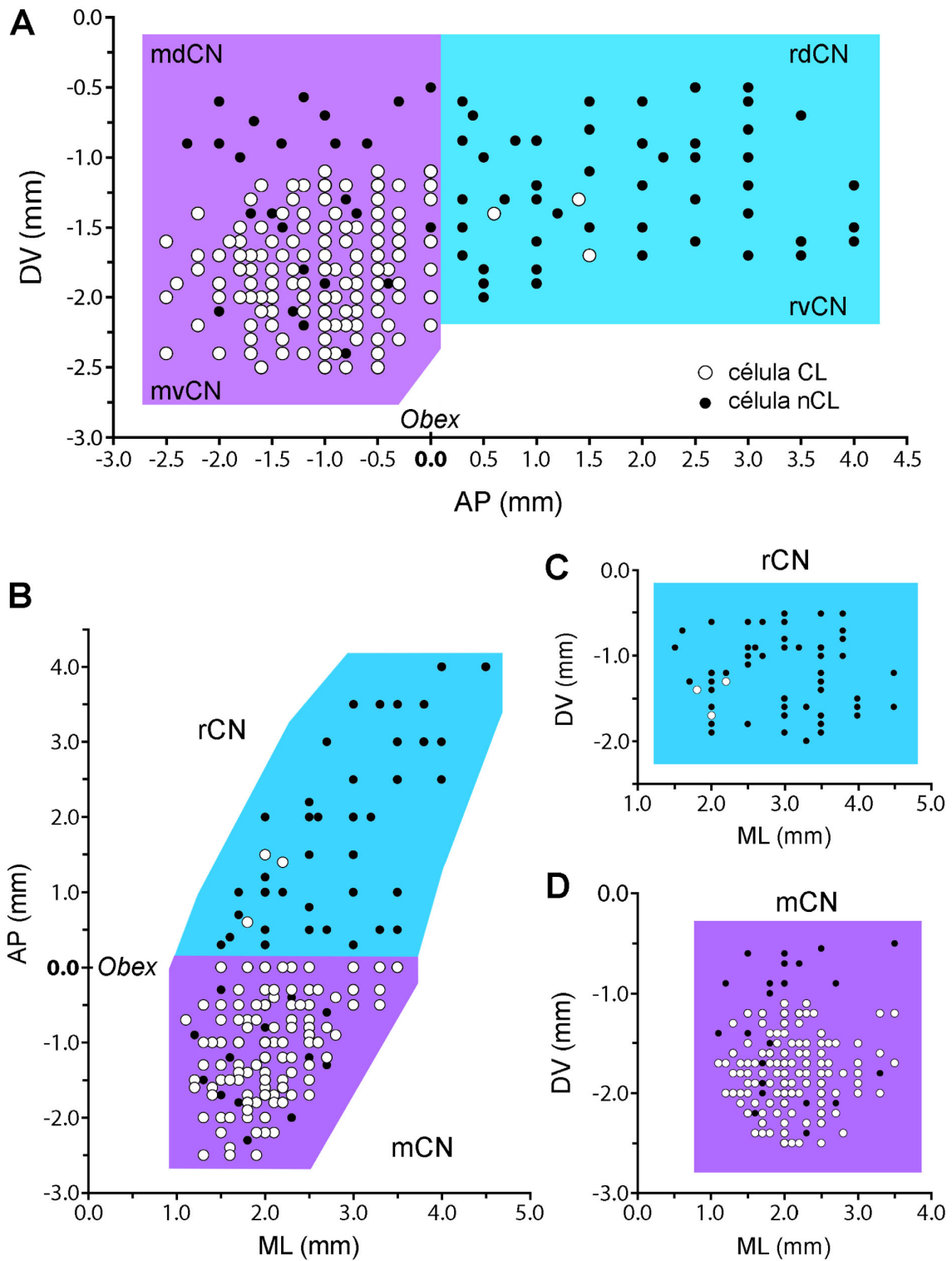


Figura 21. Localización de los lugares de registro y estimulación en el CN. **A – C**, secciones coronales a diferentes niveles del CN. **A** y **B**: secciones pertenecientes al rCN realizadas, respectivamente, a 2 y 3 mm por delante del óbex. **C**: sección perteneciente al mCN, 2.0 mm por detrás del óbex. Todos los cortes presentan lesiones electrolíticas (marcadas con flechas) en los lugares en los que se registraron (**C**) o se registraron y estimularon (**A** y **B**) algunas de las neuronas estudiadas. Tinciones: tionina (**A** y **B**), rojo neutro (**C**). **D**: profundidad media ± SEM, medida desde la superficie del tejido, a la que se encontraron las neuronas propioceptivas en el rCN ($n = 57$) y en el mCN ($n = 183$). $P < 0.001$; Mann-Whitney. Abreviaturas: eCN, núcleo *cuneatus* externo; IO, núcleo de la oliva inferior; LRt, núcleo reticular lateral; mCN, núcleo *cuneatus* medial; mGN, núcleo *gracilis* medial; Pyr, pirámide; rCN, núcleo *cuneatus* rostral; rGN, núcleo *gracilis* rostral; s, tracto solitario; SM, núcleo medial del tracto solitario; Sol, núcleo del tracto solitario; Sp5, núcleo del espinal del trigémino; SRD, subnúcleo reticular dorsal; Z, núcleo Z; 12, núcleo hipogloso.



En numerosos trabajos se describe que las aferencias primarias propioceptivas que llegan al CN hacen sinapsis, preferentemente, en las neuronas del mvCN y del rvCN (Rosén, 1969a,b; Millar y Basbaum, 1975; Dykes *et al.*, 1982; Nyberg y Blomqvist, 1982, 1984; Jasmin *et al.*, 1985; Fyffe *et al.*, 1986a; Surmeier y Towe, 1987). En consonancia con los estudios previos, las neuronas propioceptivas registradas en el presente trabajo se localizaron, en su mayoría, en el mvCN, apareciendo algunas células activadas por aferencias musculares en los bordes de los agregados del mdCN (Fig. 22). Del mismo modo, las células propioceptivas fueron más abundantes en el rvCN pero también aparecieron en buen número en el rdCN, donde se registraron algunas neuronas cutáneas, sobre todo en la parte más cercana al óbex. Estos datos confirman que, a diferencia de lo que ocurre con las neuronas cutáneas del mdCN, las células propioceptivas no se disponen agrupadas formando agregados o *clusters*, sino que presentan una distribución reticular (Kuypers y Tuerk, 1964; Berkley *et al.*, 1986).

4.2.2.- Distribución de las neuronas en función de sus campos receptores.

Todas las neuronas estudiadas respondieron al movimiento de una sola articulación en una única dirección, y mostraron un silencio en la descarga, cuya duración dependía de la velocidad y magnitud del desplazamiento, al mover la articulación en sentido contrario; lo que indicaba que las células estudiadas recibían información de aferencias primarias de tipo *Ia*. El 53.8% de las neuronas estudiadas (129/240, 102 mCN) se activaron mediante la flexión de la articulación adecuada, mientras que 111/240 (46.2%, 81 mCN) respondieron a la extensión (Fig. 23B). Atendiendo a la articulación que las activó, podemos dividir las neuronas registradas en los siguientes grupos: 97/240 que respondieron a la manipulación del codo (40.4%; 75 mCN y 22 rCN), 72 que respondieron a la muñeca (30.0%; 57 mCN y 15 rCN), 52 a los dedos (21.7%; 40 mCN y 12 rCN) y 19 al hombro (7.9%; 11 mCN y 8 rCN) (Fig. 23A).

« **Figura 22.** Esquema en el que se representa la posición de las neuronas registradas en el CN. Los círculos blancos representan a las neuronas CL y los negros a las nCL. Las células pertenecientes al rCN (azul) se localizaron entre el óbex (posición 0.0 en el eje antero-posterior; AP) y hasta 4.0 mm en sentido rostral; y las del mCN (morado) se concentraron desde el óbex hasta 3.0 mm en sentido caudal (números negativos; **A** y **B**). La línea media coincide con la posición 0.0 en el eje medio-lateral (ML), los valores en el eje dorso-ventral (DV) se representan con números negativos tomando como cero la superficie del tejido.

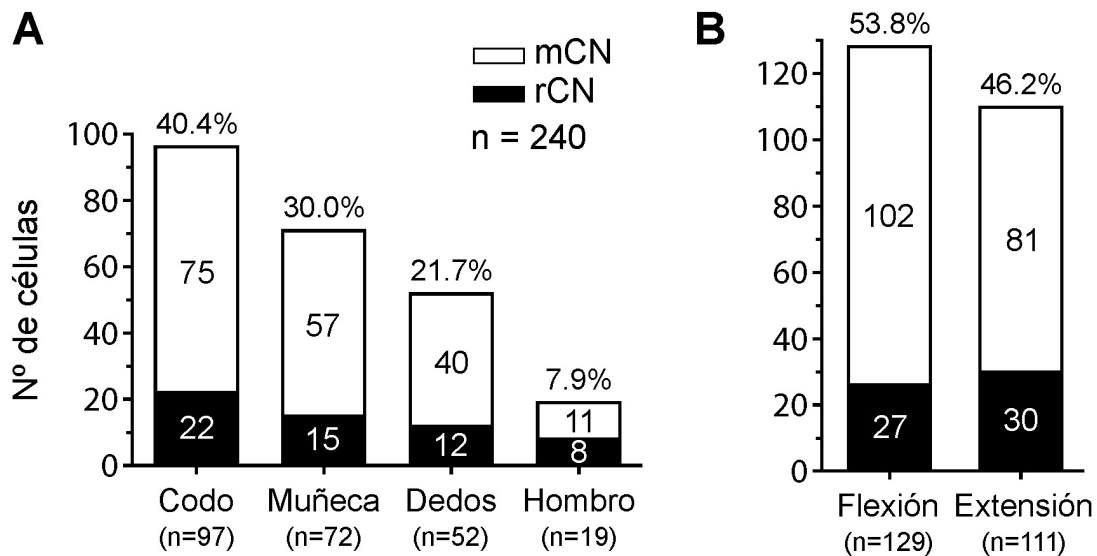


Figura 23. Distribución de las neuronas propioceptivas del CN dependiendo de su campo receptor: la articulación activadora (**A**) y el tipo de movimiento al que respondieron (**B**). Se representan en blanco las neuronas pertenecientes al mCN y en negro las del rCN. En cada histograma aparece, de arriba abajo: el porcentaje de neuronas que responden a esa articulación, el número de células registradas en cada una de las regiones y el número total de neuronas que responden a la manipulación de la articulación correspondiente.

Coincidiendo con los resultados de estudios anteriores (Millar y Basbaum, 1975; Dykes *et al.*, 1982; Jasmin *et al.*, 1985; Surmeier y Towe, 1987), constatamos que no existe una organización somatotópica de las neuronas propioceptivas, otro dato que las diferencia de las neuronas activadas por aferencias cutáneas (Gordon y Paine, 1960; Kuypers y Tuerk, 1964; Keller y Hand, 1970; Blomqvist *et al.*, 1978; Cheema *et al.*, 1983; Berkley *et al.*, 1986; Fyffe *et al.*, 1986b). Esto se pone de manifiesto en la figura 24, en la que se representa la posición de las células registradas, activadas desde campos receptores situados a distintos niveles a lo largo de la pata delantera. Las células aparecen entremezcladas en todas las regiones del CN, sin que se observe una organización musculotópica definida. Si bien, las neuronas del mvCN activadas por el hombro se encontraron preferentemente en las zonas más cercanas al óbex, entre 0 y 1 mm (Fig. 24B; azul).

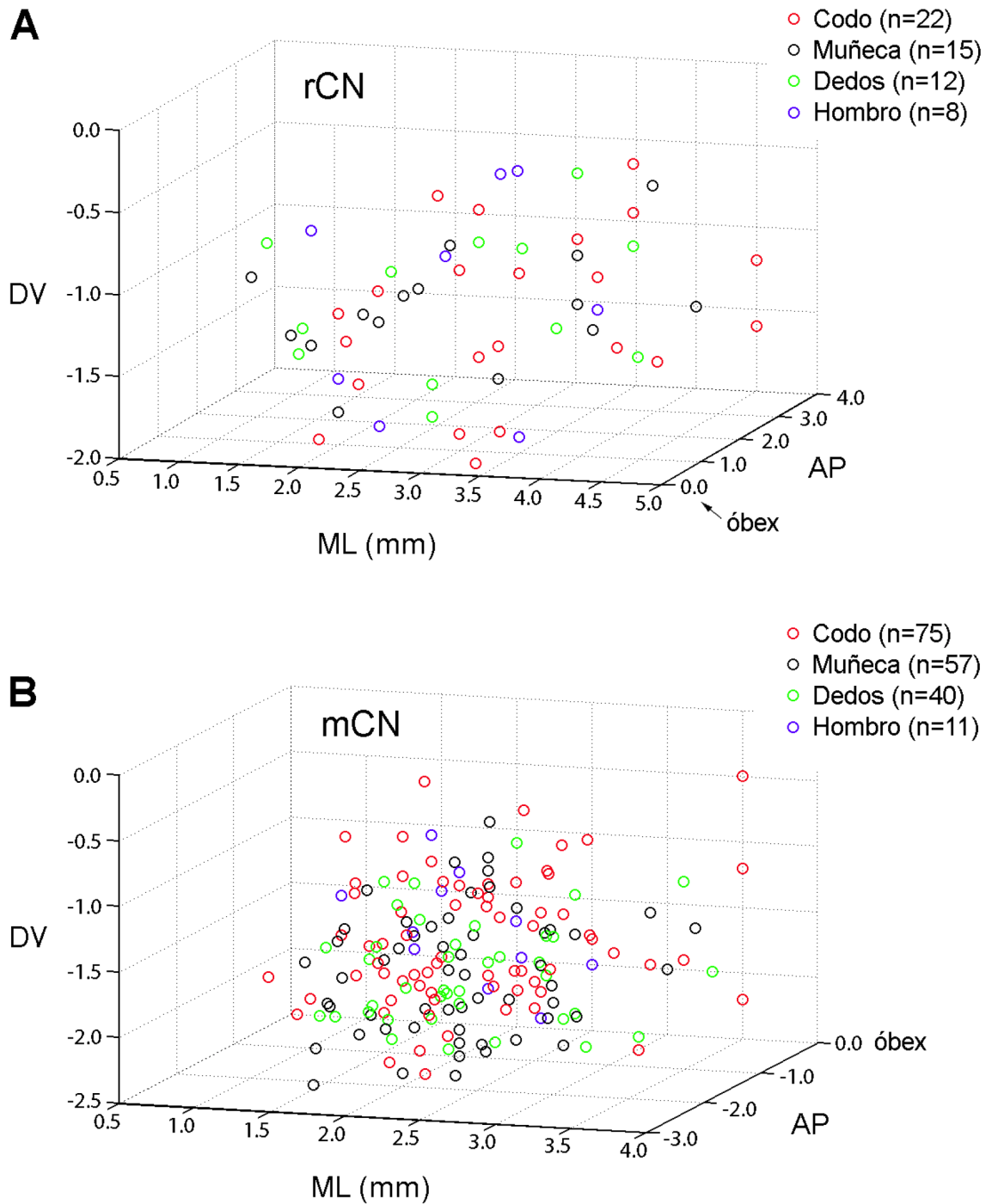


Figura 24. Las neuronas propiceptivas del CN no presentaron una distribución musculotópica definida. Esquema que ilustra la distribución de las neuronas registradas en el rCN (**A**) y en el mCN (**B**) agrupadas según la articulación que las activó. Las posiciones posteriores al óbex se representan con números negativos en el eje AP, al igual que los valores de profundidad en el eje DV. El cero se corresponde con el óbex en el eje AP, con la superficie del tejido en el eje DV, y con la línea media en el eje ML. Unidades de los ejes en mm.

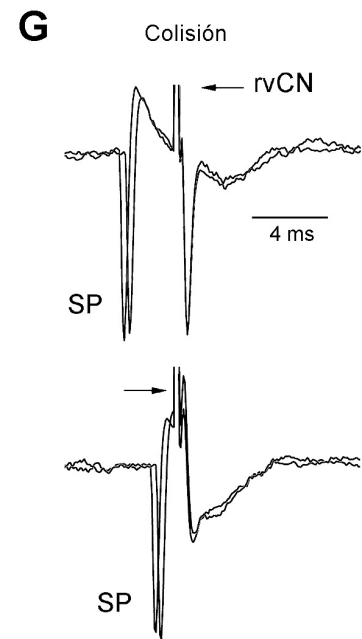
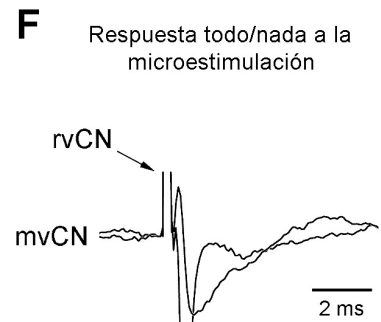
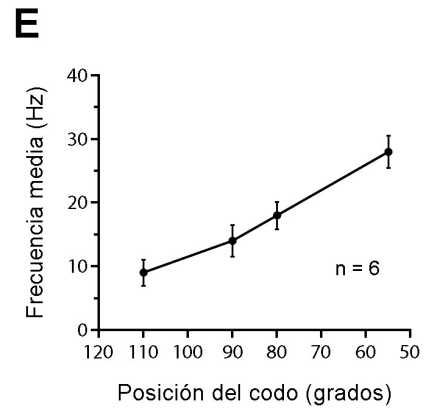
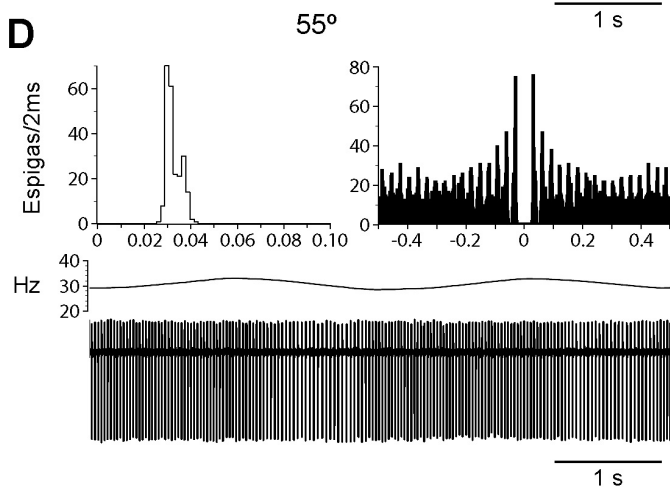
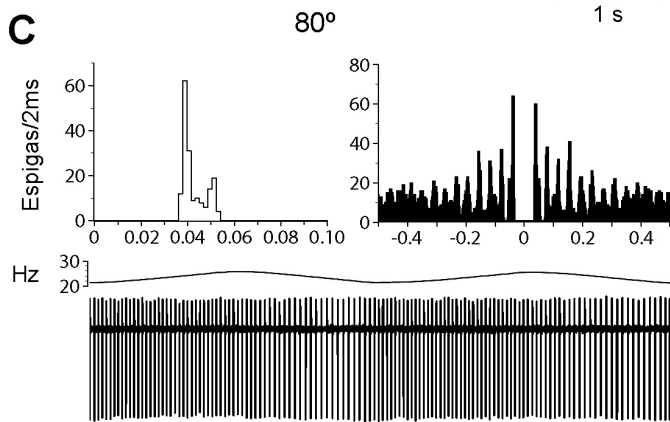
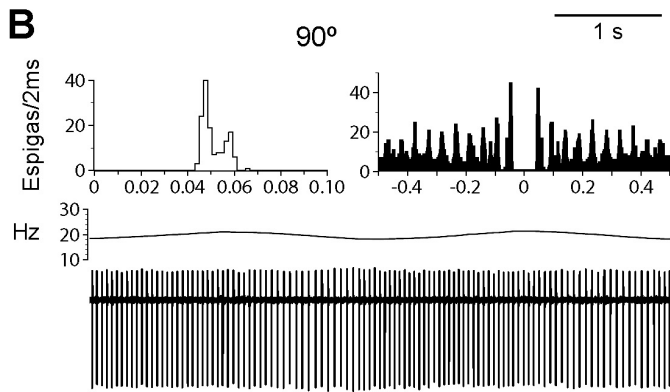
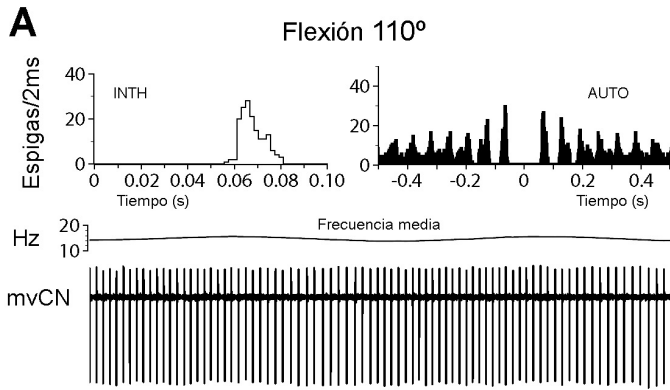
4.3.- Sensibilidad de las neuronas propioceptivas del núcleo *cuneatus* al estiramiento mantenido

El preparado experimental utilizado permitió el estudio de la respuesta al estiramiento mantenido. Se estudiaron 18 neuronas del mvCN, y tanto las CL ($n = 12$) como las nCL, mostraron una actividad con propiedades similares a las de las fibras aferentes primarias de los husos musculares. Estas células se activaron en respuesta al estiramiento mantenido del músculo; un parámetro directamente influenciado por el ángulo que forma la articulación, y por consiguiente, relacionado con la posición de la extremidad dentro del rango de movimiento de la articulación. La actividad de algunas células cesó al colocar la articulación en los ángulos fisiológicos extremos, lo que confirma que los receptores articulares no contribuyeron a las respuestas obtenidas puesto que estos se activan precisamente a esos ángulos (Burgess y Clark, 1969; Clark y Burgess, 1975; McCloskey; 1978; Burke *et al.*, 1988).

En la figura 25 se muestra un ejemplo de una neurona nCL que respondió antidrómicamente a la microestimulación del rvCN (respuesta todo/nada y colisión en los paneles F y G), y aumentó la tasa de descarga a medida que se modificó la posición de la articulación activadora, el codo en este caso. Partiendo de la posición de reposo, con el “brazo” y el “antebrazo” formando un ángulo de 130° , se flexionó la articulación manteniéndola durante 5 minutos en cada una de las posiciones estudiadas (110 , 90 , 80 y 55°). Tal y como se observa en los registros presentados en los diferentes paneles (A – D), la descarga de la neurona aumentó de manera prácticamente lineal a medida que aumentó el grado de flexión del codo. Esto se ilustra en la gráfica del panel E en la que se agrupan los datos de 6 células diferentes (4 CL; media \pm SEM). Este incremento de la frecuencia media de descarga (representada por el trazo sobre el registro) se corresponde con la disminución del intervalo entre espigas que se ilustra con los correspondientes histogramas de intervalos (INTH) y los autocorrelogramas (AUTO) de cada panel.

» **Figura 25.** Respuesta de las neuronas propioceptivas del mvCN al estiramiento mantenido, inducido por el movimiento de su articulación activadora. **A – D:** actividad de una neurona nCL que presentaba una descarga espontánea de ≈ 0.4 Hz, con el codo en posición de reposo (antebrazo y brazo formando un ángulo de 130°). El codo se flexionó gradualmente y se mantuvo durante 5 min. en cada una de las posiciones estudiadas. INTH, histograma de intervalos entre espigas; AUTO, autocorrelograma. **E:** el incremento en la actividad de la neurona fue casi lineal, la gráfica acumula los datos de 6 neuronas diferentes; media \pm SEM. Esta supuesta interneurona respondió antidrómicamente a la estimulación en el rvCN, se muestran la respuesta todo/nada (**F**) y una superposición de dos colisiones (**G**) con sendas espigas espontáneas (SP).

Flexión del codo desde la posición de reposo (130°)

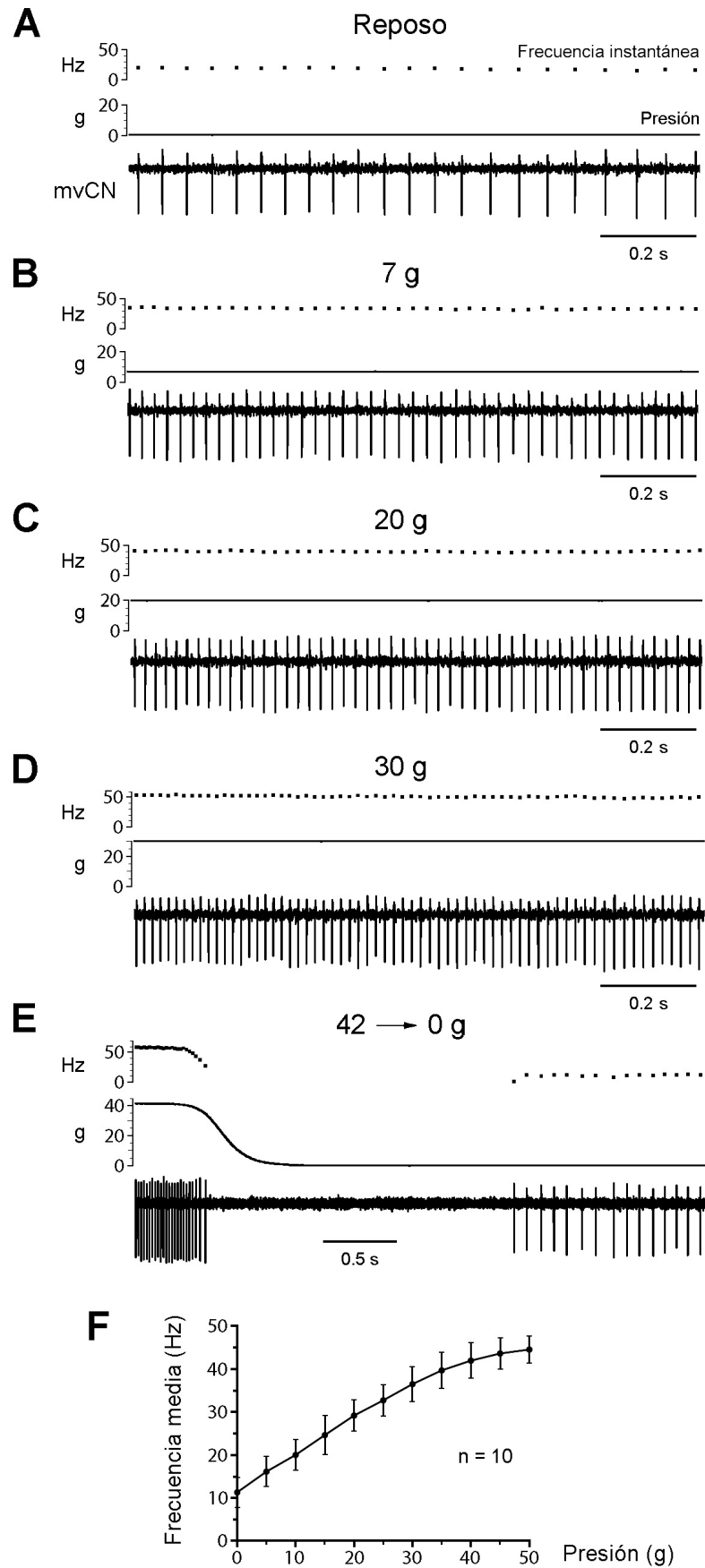


La misma célula presentó un comportamiento similar en su cinética de descarga cuando se estimuló, de forma específica, el músculo en el que se encontraba su campo receptor (Fig. 26). El estiramiento muscular se consiguió mediante una sonda acoplada a un estimulador Von Frey electrónico, con la que se aplicó presión de forma mantenida (a través de la piel) en la región que presentaba el menor umbral de activación, presumiblemente sobre un huso muscular. En el panel A y sucesivos, se representan de arriba abajo: la frecuencia instantánea de descarga (Hz), el valor de la presión aplicada (g) y el registro de la actividad unitaria de la neurona.

Manteniendo la extremidad en la posición de reposo descrita anteriormente (panel A) se aplicó una presión continua, de intensidad creciente (7, 20, 30 y 42 g; paneles B – E) sobre un mismo punto, y en períodos consecutivos de 30 s. A medida que aumentó la presión ejercida sobre el músculo, y por lo tanto el estiramiento fue mayor, se incrementó la frecuencia instantánea de la descarga (trazo superior punteado) y de nuevo, el aumento de la intensidad del estímulo se tradujo en un incremento lineal de la descarga (gráfica en el panel F; n = 10 neuronas diferentes). Destacar en el panel E el silencio que se produjo en la descarga una vez que cesó el estiramiento; una característica diferencial de la respuesta de las neuronas propioceptivas activadas por aferencias de tipo *Ia*.

» **Figura 26.** Respuesta de las neuronas propioceptivas del mvCN al estiramiento mantenido, inducido por la continua aplicación de presión sobre el músculo. La misma célula nCL que respondió a la flexión del codo, se estimuló mediante la aplicación continua de presión de intensidad creciente (7, 20, 30, 42 g), sobre el *triceps brachii*, utilizando un Von Frey electrónico (A – E). Se produjo un incremento en la descarga de características similares al observado en el caso anterior (Fig. 25) en el que se utilizó como estímulo el movimiento de la articulación; ver la gráfica del panel F (n = 10 células diferentes, 7 CL; media \pm SEM) en la que se aprecia el incremento lineal de la respuesta. Nótese el silencio en el disparo cuando cesa el estiramiento (E).

Presión aplicada sobre el músculo con un Von Frey electrónico



4.4.- Respuesta de las células cuneolemniscales del mvCN a la estimulación eléctrica en el ML, el NRGc y la MLR

Una vez identificadas las dos poblaciones de neuronas activadas por aferencias propioceptivas en el mCN y en el rCN, el siguiente paso consistió en estudiar sus posibles proyecciones hacia el tálamo u otras estructuras pertenecientes al tronco del encéfalo y relacionadas con el control y la generación de los movimientos, como son el NRGc y la MLR. Para ello, a la vez que se registraban las neuronas en las dos regiones del CN, se estimuló a través de electrodos metálicos situados en el ML contralateral, y en el NRGc y la MLR ipsilaterales. Además, se colocó otro electrodo de estimulación en el ICP ipsilateral para identificar y descartar las neuronas propioceptivas pertenecientes al eCN, una estructura adyacente al rCN.

4.4.1.- Respuestas a la estimulación del lemnisco medial.

La mayoría de las 183 neuronas registradas en el mCN respondieron antidrómicamente a la estimulación en el ML contralateral (149/183; 81.42%). La práctica totalidad de las neuronas propioceptivas CL se registraron en el mvCN (149/152, el 98.03%) (Fig. 22; Tabla 3) y la respuesta a la estimulación eléctrica presentó una latencia media de 1.39 ± 0.23 ms (media \pm SEM). En el 27.52% de los casos (41/149), tras la respuesta antidrómica se produjo un silencio en la descarga espontánea que duró entre 200 y 500 ms (Fig. 27D).

En la figura 27 se muestra un ejemplo de la respuesta a la estimulación en el ML, de una neurona CL (colisión en el panel A) registrada en el mvCN. Se ilustra su localización con el punto negro superpuesto en el esquema de una sección coronal realizada 1.5 mm por detrás del óbex (panel B). En el histograma periestímulo se representa la latencia de la respuesta a la estimulación en el ML a una frecuencia de 1 Hz (panel C) y en el panel D, un fragmento de registro muestra los silencios transitorios en la actividad espontánea, provocados por los estímulos aplicados en el ML.

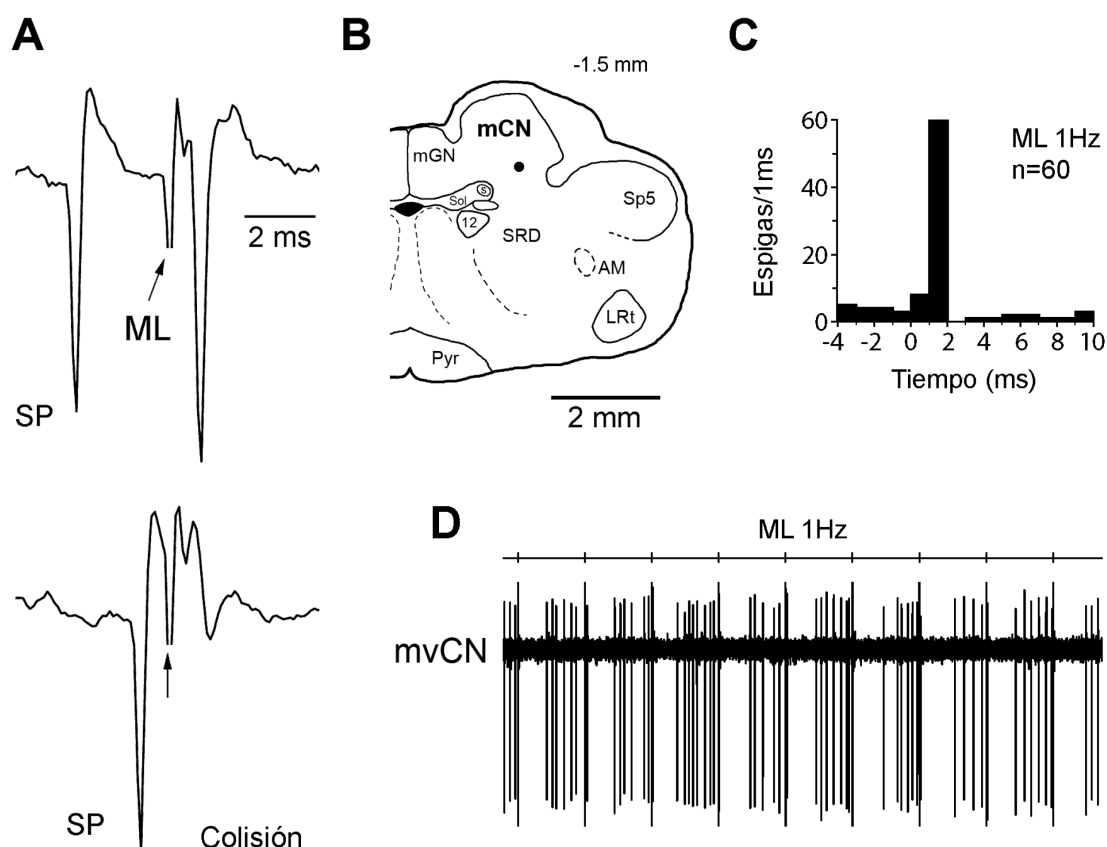


Figura 27. Respuestas de las neuronas propioceptivas del mvCN a la estimulación en el ML. **A** – **D**, la misma célula CL. **A**: colisión entre una espiga espontánea (SP) y la respuesta inducida por la estimulación eléctrica. Artefactos generados por la estimulación eléctrica marcados con flechas. **B**: sección coronal (1.5 mm caudal al óbex) en la que se representa con un punto negro la localización de la neurona registrada en el mvCN. **C**: latencia de la respuesta antidrómica (ms). **D**: Registro unitario. Silencios transitorios en la actividad espontánea provocados por los estímulos aplicados en el ML. Los artefactos de la estimulación eléctrica se ilustran, sobre el registro, en un canal registrado por separado. Abreviaturas: AM, núcleo ambiguo; LRt, núcleo reticular lateral; mCN, núcleo *cuneatus* medial; mGN, núcleo *gracilis* medial; ML, lemnisco medial; Pyr, pirámide; s, tracto solitario; Sol, núcleo del tracto solitario; SP, espiga espontánea; Sp5, núcleo del espinal del trigémino; SRD, subnúcleo reticular dorsal; 12, núcleo hipoglosio.

Solamente 3 de las 57 neuronas propioceptivas registradas en el rCN (el 5.26%) respondieron antidrómicamente a la estimulación del ML (Fig. 22; Tabla 3), con latencias de 0.9, 1.0 y 1.2 ms. En otras 11 células (19.30%), se observaron respuestas sinápticas con una latencia a la primera espiga de 1.5 – 8.0 ms, y en las 43 células restantes (75.44%) no se detectó ningún tipo de respuesta a la estimulación lemniscal. El panel A de la figura 28 muestra: la colisión de la respuesta inducida por la estimulación en el ML con una espiga espontánea (SP), la localización de la neurona registrada en el rvCN y un

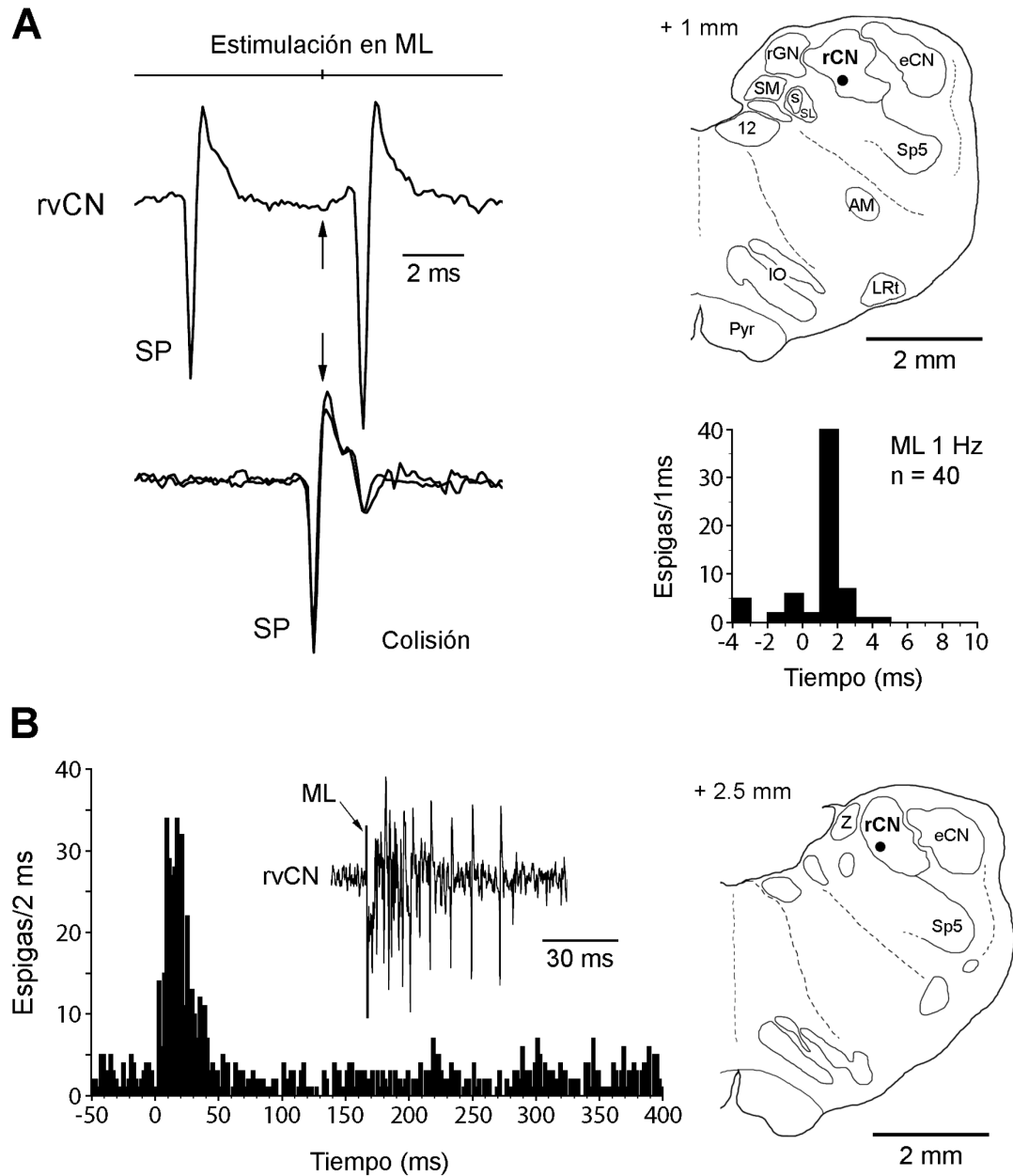


Figura 28. Respuestas de las neuronas propioceptivas del rvCN a la estimulación en el ML. **A:** neurona CL del rvCN: superposición de dos colisiones entre la respuesta antidrómica al ML y sendas espigas espontáneas (SP); sección coronal (1 mm rostral al óbex) en la que se marca con un punto negro la ubicación de la neurona estudiada; histograma periestímulo que representa la latencia de la respuesta antidrómica (ms). **B:** histograma periestímulo de las respuestas sinápticas a la estimulación en el ML de una neurona nCL del rvCN (punto negro en la sección de la derecha), localizada 2.5 mm por delante del óbex. Las flechas indican, en los dos paneles, los artefactos generados por la estimulación eléctrica. Abreviaturas: AM, núcleo ambiguo; eCN, núcleo *cuneatus* externo; IO, oliva inferior; LRt, núcleo reticular lateral; ML, lemnisco medial; Pyr, pirámide; rCN, núcleo *cuneatus* rostral; rGN, núcleo *gracilis* rostral; s, tracto solitario; SL, núcleo lateral del tracto solitario; SM, núcleo medial del tracto solitario; SP, espiga espontánea; Sp5, núcleo del espinal del trigémino; Z, núcleo Z; 12, núcleo hipoglosa.

histograma periestímulo en el que se representa la latencia de la respuesta antidrómica. En el panel B se representa la respuesta ortodrómica de otra neurona del rvCN a la estimulación del ML, así como su localización en el núcleo 2.5 mm por delante del óbex.

	rCN			mCN		
	CL	nCL	Total	CL	nCL	Total
rdCN	0	18	18	mdCN	0	12
rvCN	3	36	39	mvCN	149	171
<i>Total</i>	3	54	57	<i>Total</i>	149	183

Tabla 3. Distribución de las neuronas propioceptivas cuneolemniscales en las diferentes áreas del rCN y del mCN.

4.4.2.- Respuestas de las neuronas CL a la estimulación del NRGc y de la MLR.

En 52 de las 149 neuronas CL del mvCN, se estudió el efecto de la estimulación en el NRGc y la MLR ipsilaterales. Veintiuna de las 52 células estudiadas, el 40.4%, respondieron antidrómicamente al NRGc, 2 a la MLR (3.8%) y 8 se activaron antidrómicamente desde ambas estructuras (15.4%). En la figura 29A se muestran tres ejemplos de colisiones de espigas espontáneas (SP) con las respuestas a la estimulación antidrómica en el ML, el NRGc y la MLR; y en los paneles B y C, las colisiones recíprocas entre las estructuras estimuladas. La estimulación en el NRGc y en la MLR generó, además de la respuesta antidrómica, una ráfaga de entre 3 y 5 espigas ortodrómicas con una latencia a la primera espiga de entre 9.5 y 12.0 ms, en el caso del NRGc; y de entre 10.5 y 16.0 ms en respuesta a la estimulación de la MLR. No se encontró ninguna neurona del rCN (CL o nCL) que respondiera a la estimulación del NRGc o la MLR.

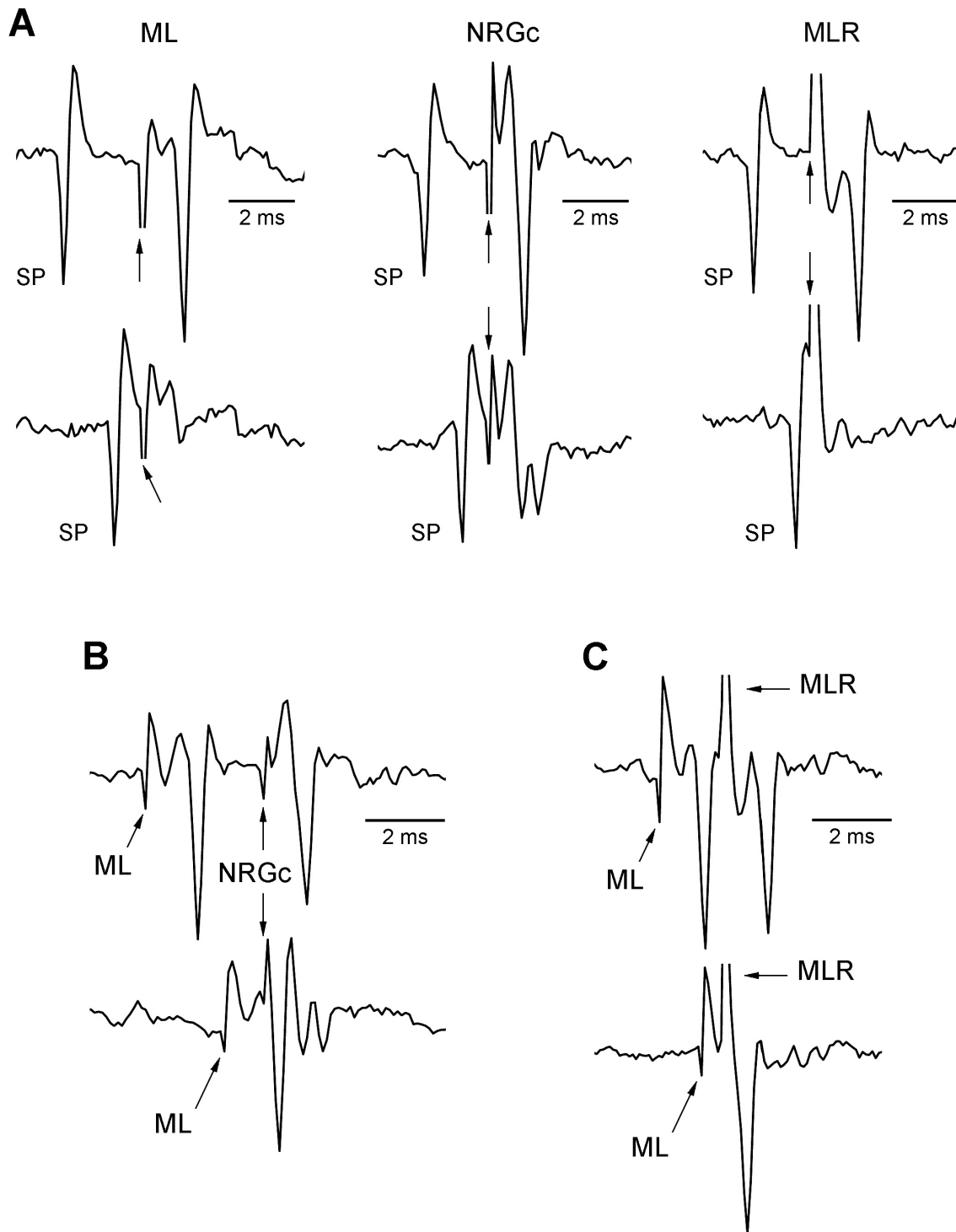


Figura 29. El 55.8% de las neuronas CL del mvCN envían colaterales que llegan o pasan a través del NRGc y la MLR. **A:** en los trazos superiores se muestran las respuestas antidrómicas de una de las 8 neuronas activadas por la estimulación eléctrica en las tres estructuras: el ML, el NRGc y la MLR. Los trazos inferiores muestran las colisiones de estas respuestas con espigas espontáneas (SP). **B-C:** colisiones recíprocas entre las respuestas inducidas por la estimulación en las tres estructuras estudiadas: ML – NRGc (**B**) y ML – MLR (**C**). Las flechas indican los artefactos generados por la estimulación eléctrica.

De estos datos se desprende que: el 55.8% de las neuronas CL estudiadas (29/52) envían colaterales axónicas que terminan o pasan a través de la formación reticular ipsilateral y el 19.2% hace lo propio en la MLR.

Este hallazgo plantea la posibilidad de que colaterales axónicas de neuronas propioceptivas CL, terminen en estructuras ipsilaterales que originan y controlan los movimientos. Otro dato a resaltar es que la estimulación aplicada en el NRGc o la MLR no activó antidrómicamente a ninguna neurona nCL.

4.4.2.1.- Respuestas sinápticas a la estimulación en el NRGc y en la MLR.

Algunas de las neuronas que no respondieron antidrómicamente a la estimulación eléctrica en el NRGc y en la MLR, presentaron respuestas sinápticas o silencios transitorios en la actividad espontánea, tras el estímulo eléctrico.

Respuestas sinápticas a la estimulación en el NRGc.

Doce de las 23 neuronas que no respondieron a la estimulación antidrómica desde el NRGc (el 52.2%), presentaron respuestas sinápticas (Fig. 30A) con una latencia a la primera espiga de 2.0 a 5.0 ms, seguida de una ráfaga de 3 – 5 espigas con una latencia de entre 9.5 y 12.0 ms. Otras 6 de las 23 células que no respondieron antidrómicamente al NRGc (26.1%), dejaron de descargar durante los 40 – 80 ms siguientes al estímulo y en 5 de las neuronas estudiadas no se produjo ningún tipo de respuesta a la estimulación del NRGc.

Respuestas sinápticas a la estimulación en la MLR.

La estimulación en la MLR aumentó la descarga en 10 de las 42 neuronas que no respondieron antidrómicamente (23.8%), generando una respuesta con una latencia de 4.5 – 6.0 ms, seguida de una ráfaga de entre 3 y 5 espigas que presentó una latencia de 10.5 – 16.0 ms (Fig. 30B). La descarga espontánea de otras 12 de las 42 neuronas que no proyectaron a la MLR (28.6%), cesó durante 200 – 300 ms tras el estímulo eléctrico. En 20 de las células estudiadas (47.6%) no se observó respuesta alguna a la estimulación de la MLR.

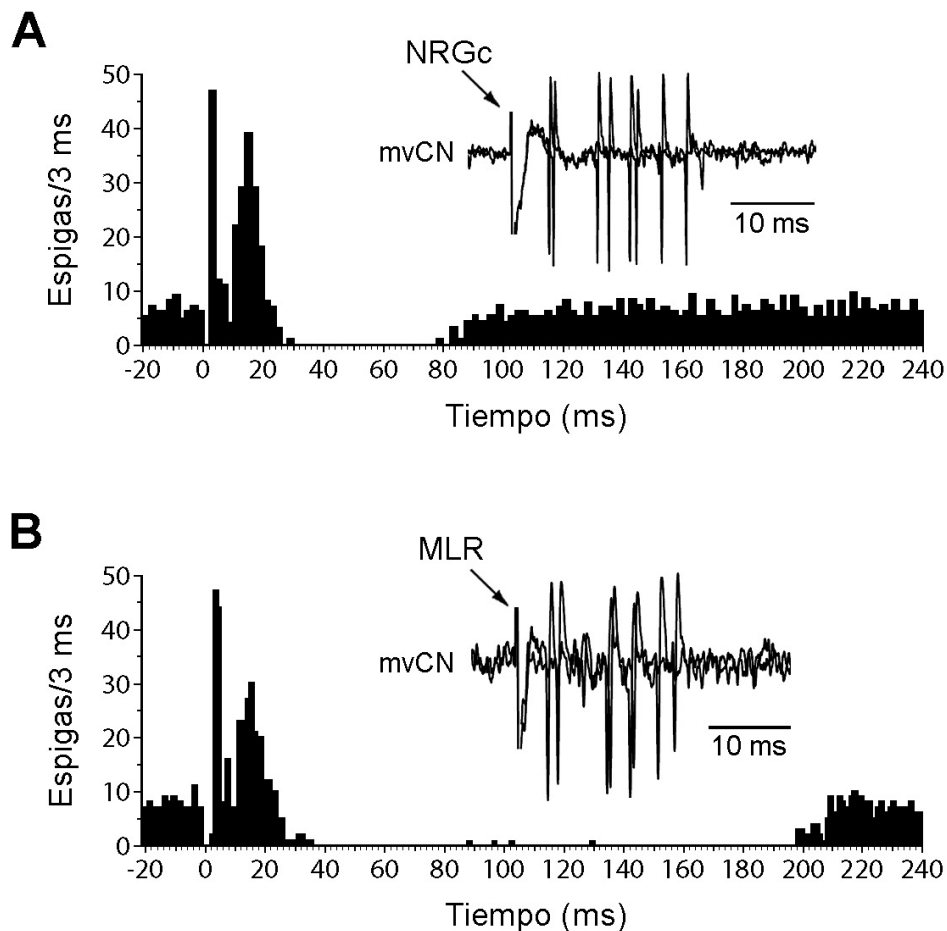


Figura 30. Respuestas sinápticas a la estimulación del NRGc y la MLR. **A** y **B**, dos células CL diferentes. **A**: histograma periestímulo de la respuesta a la estimulación en el NRGc ($n = 60$ barridos). Las respuestas sinápticas consistieron en una respuesta excitatoria (superposiciones), formada por una primera espiga con una latencia de 2 – 5 ms y una ráfaga más tardía (9.5 – 12 ms); seguidas, en algunos casos, por un silencio en la actividad espontánea que se prolongó durante 40 – 80 ms (histograma). **B**: La estimulación en la MLR provocó una respuesta similar aunque las latencias fueron ligeramente superiores (4.5 – 6.0 ms a la primera espiga y la ráfaga a 10.5 – 16.0 ms) y el silencio se prolongó durante más tiempo (200 – 300 ms).

4.5.- Estimulación eléctrica en el lemnisco medial y las columnas dorsales: Diferencias en la velocidad de conducción de las fibras propioceptivas y cutáneas

Velocidad de conducción a través del ML y de las aferencias primarias

4.5.1.- Velocidad de conducción antidrómica.

Al realizar los experimentos de estimulación en el ML se observó que la latencia de las respuestas de las neuronas propioceptivas era mayor que la de las neuronas cutáneas registradas en la parte dorsal del mCN, valores estos

últimos que coincidían con los datos obtenidos en trabajos realizados anteriormente en nuestro laboratorio (Aguilar *et al.*, 2002, 2003; Soto *et al.*, 2004, 2006). Este hallazgo nos llevó a comparar la muestra de las neuronas propioceptivas del mvCN con la latencia de las neuronas cutáneas del mdCN. Tras analizar los datos, las latencias de las respuestas antidrómicas a la estimulación en el ML de las neuronas propioceptivas (1.39 ± 0.23 ms; $n = 149$), se demostró significativamente superior ($P < 0.001$; Mann-Whitney) a la de las células cutáneas de la región de los agregados (0.93 ± 0.43 ms; $n = 97$). Con los valores de las latencias, y sabiendo que la distancia media entre el punto de estimulación en el ML y el lugar de registro en el mCN fue de 20.0 mm, calculamos la velocidad de conducción antidrómica de los dos tipos de fibras. Los valores obtenidos se muestran en la figura 31, en la que se aprecia cómo la velocidad de conducción antidrómica de las fibras cutáneas (21.85 ± 2.01 m/s, media \pm SD; $n = 97$) es significativamente superior ($P < 0.001$; Mann-Whitney) a la de las fibras propioceptivas (14.50 ± 0.89 m/s; $n = 149$).

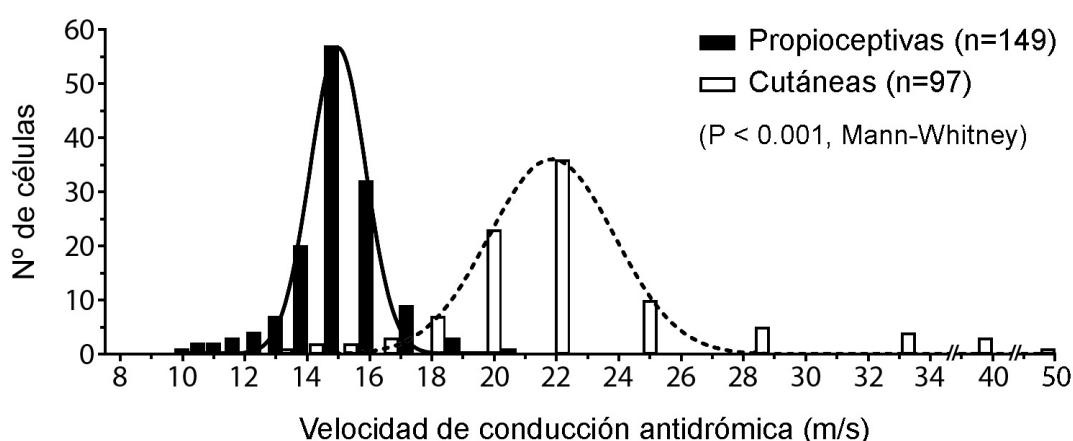


Figura 31. La velocidad de conducción antidrómica de las fibras propioceptivas (negro, línea continua; 14.5 ± 0.89 m/s; $n = 149$) es significativamente inferior a la de las fibras cutáneas (blanco, línea discontinua; 21.85 ± 2.01 m/s; $n = 97$). Media \pm SD; $P < 0.001$; Mann-Whitney. Nótese que el eje X aparece truncado en 35 y 45 m/s.

4.5.2.- Velocidad de conducción de las fibras aferentes primarias.

Tras analizar las diferencias en la velocidad de conducción de los axones cuneolemniscales propioceptivos y cutáneos, y dado que las informaciones cutánea y propioceptiva llegan simultáneamente al núcleo VPL del tálamo (Andersson *et al.*, 1966; Mallart, 1968), se diseñó un experimento para estudiar la velocidad de conducción de las fibras aferentes que llevan la información propioceptiva a las neuronas del CN, y así poder compararla con la de las fibras

aferentes cutáneas. Con este experimento se pretendía verificar la hipótesis de que la transmisión de la información propioceptiva a través de las aferencias primarias es más rápida que la de la información cutánea. Esto compensaría la diferencia de velocidad de conducción a través de las fibras del ML y contribuiría a la llegada simultánea al tálamo de la información propioceptiva y cutánea. La hipótesis estaba fundamentada en los resultados de un estudio realizado en el gato por Mallart (1968), en el que observó que los potenciales de campo cutáneos, registrados en el CN e inducidos por la estimulación eléctrica de fibras cutáneas a nivel periférico (nervios cutáneos), presentaban una latencia mayor que los provocados por la estimulación aplicada en un nervio propioceptivo.

En los cuatro experimentos en los que se estudió el efecto de la SCh, se colocaron, además, dos electrodos de estimulación en las DC ipsilaterales a nivel de C2 y C4, a través de los cuales se estimuló eléctricamente a una frecuencia de 1 – 50 Hz. Sabiendo que la distancia media entre los dos electrodos fue de 29.0 mm y conociendo las latencias de las respuestas inducidas por cada uno de los electrodos, se calculó la velocidad de conducción de las fibras aferentes de cada tipo. Ver la descripción del preparado experimental en el *apartado 3.3.2* de la sección de *Materiales y métodos*.

En los paneles A, B y C de la figura 32 se presentan las respuestas a la estimulación eléctrica en las DC de tres neuronas propioceptivas del mvCN. En cada panel, el trazo superior se corresponde con la respuesta al electrodo situado a nivel C2 (DC1) y el inferior al electrodo de C4 (DC2) más alejado de la neurona registrada y que, por lo tanto, indujo una respuesta de mayor latencia. En A y B se presenta la señal promediada de 50 respuestas, mientras que en C y D se superponen 5 respuestas a cada uno de los electrodos cervicales. En el panel D los registros superpuestos pertenecen a una neurona situada en el mdCN que presentó un campo receptor cutáneo.

Neuronas activadas por aferencias propioceptivas (A, B y C)

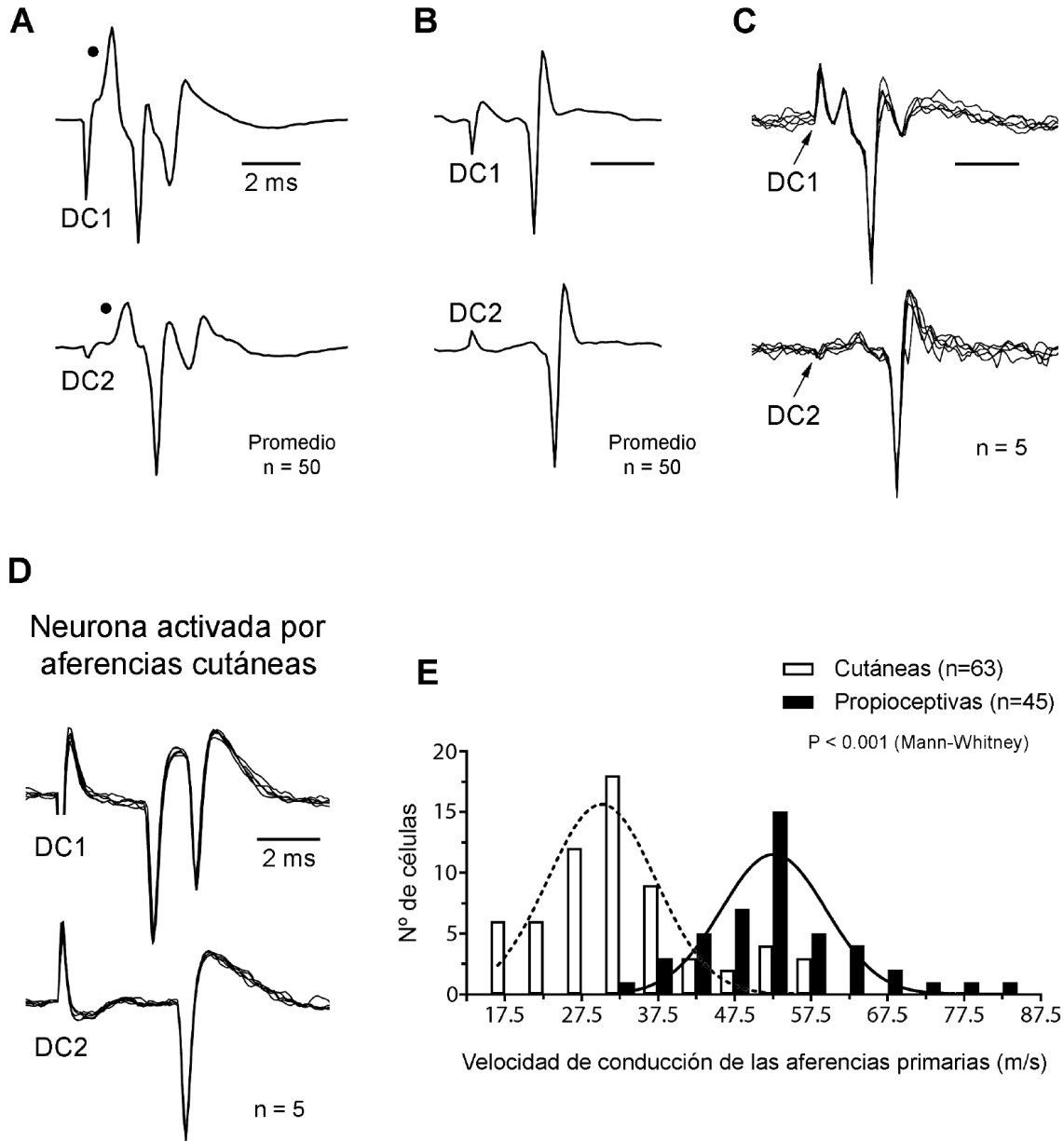


Figura 32. Diferencias entre la velocidad de conducción de las fibras aferentes propioceptivas y las cutáneas. **A – C:** respuestas de células CL activadas por la estimulación de fibras aferentes primarias propioceptivas, y **D,** respuesta de una célula activada por una fibra cutánea. La estimulación se aplicó en dos puntos de las columnas dorsales (DC), a través de un electrodo colocado a nivel cervical 2 (DC1) y otro a nivel cervical 4 (DC2). **A y B,** promedio de 50 respuestas; **C y D,** superposiciones de 5 respuestas. Los dos puntos negros en **A** señalan sendos potenciales de campo positivos que se corresponden con la llegada de la información presináptica (Andersen *et al.*, 1964b; Millar, 1979). **E:** comparativa entre la velocidad de conducción de las fibras propioceptivas (negro, línea continua; 52.5 ± 9.4 m/s) y las fibras cutáneas (blanco, línea discontinua; 33.5 ± 11.5 m/s). Media \pm SD; $P < 0.001$, Mann-Whitney.

Los datos obtenidos confirmaron la hipótesis planteada, al revelar que la velocidad de conducción de las fibras aferentes que activan las neuronas cutáneas de la región de los agregados, es menor (33.5 ± 11.5 m/s, media \pm SD; rango 15.0 – 58.5 m/s; n = 63) que la de las aferencias propioceptivas que activan las neuronas del mvCN (52.5 ± 9.4 m/s; rango 32 – 82 m/s; n = 45). En el panel E se muestra una comparativa entre las velocidades de conducción de las aferencias primarias propioceptivas (negro) y las cutáneas (blanco), en la que se aprecia, claramente, la mayor velocidad de las fibras propioceptivas. Los puntos negros en el panel A señalan sendos potenciales de campo positivos que se corresponden con el paso de la información presináptica a través de las aferencias primarias que cruzan el núcleo (Andersen *et al.*, 1964a; Millar, 1979).

4.6.- Efecto de la microestimulación eléctrica (50 – 150 μ A) de áreas del rvCN que mostraron campos receptores solapados o no solapados con los de las neuronas registradas simultáneamente en el mvCN

Respuestas antidrómicas; monosinápticas; excitatorias e inhibitorias

Después de identificar las neuronas CL del mCN y tras corroborar la baja densidad de estas en el rCN (3/57), así como la ausencia de proyecciones desde la población rostral hacia las otras estructuras estudiadas (NRGc y MLR), se barajó la posibilidad, ya planteada por diversos autores basándose en datos electrofisiológicos y anatómicos (Andersen *et al.*, 1964a; Rosén, 1972; Lue *et al.* 1997), de que las neuronas propioceptivas del rCN fuesen interneuronas. De ser así, las interneuronas de la región rostral podrían actuar modulando la actividad de las neuronas propioceptivas del mvCN. Esta era la hipótesis de trabajo principal del estudio, y para contrastarla, se diseñó un preparado experimental que permitió estimular las neuronas de la población rostral mientras se registraba, simultáneamente, la actividad de las células de la población medial, y así estudiar los efectos que las neuronas rostrales pudiesen ejercer sobre las mediales. El preparado se describe en los *apartados* 3.3.3 y 3.7.3 de *Materiales y métodos*. Se consiguieron registros simultáneos de neuronas propioceptivas en el rCN y en el mCN. Las características de estos registros pareados, que a la postre resultaron determinantes para el estudio de la modulación de la actividad de las células del mvCN, se describen en apartado 4.7.

La estimulación a través de dos electrodos colocados en el rvCN permitió determinar que existe una marcada especificidad espacial en este núcleo. A pesar de que ambos electrodos se posicionaron muy próximos entre, sí con una

separación de 0.5 – 1.0 mm, en la mayoría de los casos sólo uno de ellos consiguió inducir la respuesta de la neurona registrada en el mvCN. Un ejemplo de este fenómeno se ilustra en la figura 33, en la que se muestran superposiciones de varias respuestas de una neurona CL (panel A; colisión), registrada en el mvCN mientras se estimulaban los electrodos del rvCN. En el trazo superior del panel B, se aprecia un pequeño potencial de campo producido por la estimulación del electrodo colocado en la posición más rostral (rvCN1), y en el inferior, la respuesta provocada por los estímulos aplicados a través del electrodo caudal (rvCN2) separado del anterior por 500 μm . Aunque el estímulo aplicado a través de ambos electrodos presentaba la misma intensidad (75 μA) sólo uno de ellos consiguió inducir la respuesta en la neurona del mvCN, indicando la gran especificidad espacial de los efectos que ejercen las células del rvCN sobre neuronas concretas del mvCN.

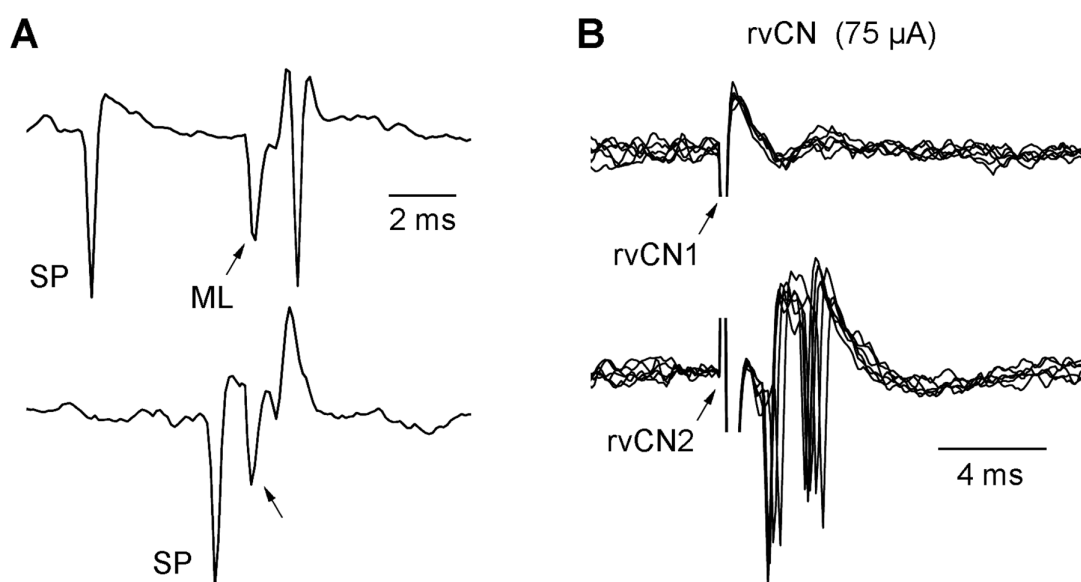


Figura 33. Respuesta de una neurona CL del mvCN a la estimulación en dos puntos del rvCN. **A:** identificación antidrómica. **B:** superposiciones de las respuestas a un estímulo eléctrico de la misma intensidad (75 μA) aplicado a través de dos electrodos posicionados en el rvCN, separados por 500 μm en el eje AP. A pesar de su proximidad, sólo uno de ellos (rvCN2) activó ortodrómicamente a la neurona registrada en el mvCN.

El efecto de la microestimulación de las células del rvCN sobre las neuronas propioceptivas del mCN se estudió en un total de 69 neuronas del mvCN (52 CL). Sólo 2 de ellas (2.9%), que a su vez resultaron ser nCL, respondieron antidrómicamente con latencias de 0.7 y 0.9 ms (ver un ejemplo en la Fig. 25, paneles F y G). El 68.1% de las neuronas estudiadas (47/69; 38 CL), aumentaron la descarga, presentando una respuesta ortodrómicamente con una

latencia a la primera espiga que osciló entre 0.3 y 3.0 ms. La mayoría de estas respuestas (38/47; 80.8%) fueron monosinápticas y 11 de ellas (28.9%) respondieron fielmente a estímulos aplicados a 100 – 200 Hz (Figs. 34A y 35A, B, C); aunque sólo se observó la colisión entre la actividad espontánea y las espigas inducidas por la estimulación en los dos casos citados anteriormente.

Un dato a destacar es que no se encontró ninguna neurona CL que respondiese antidrómicamente a la estimulación del rvCN.

En otras 14 de las 69 células estudiadas (12 CL), se observó un silencio durante los 100 – 300 ms posteriores a los estímulos que se aplicaron a 1 – 200 Hz (ejemplos en los registros de las Figs. 34B, 36B2, trazo superior; y los histogramas de las Figs. 36B3 izq., 37 y 38). Las 6 células restantes (2 CL) no presentaron ningún tipo de respuesta a la estimulación.

En el panel A de la figura 34 se muestra la actividad unitaria de una neurona CL que respondió ortodrómicamente a la microestimulación en el rvCN (la respuesta no colisiona con la espiga espontánea; SP). Esta respuesta fue monosináptica, como en el 80.8% de los casos estudiados, y siguió fielmente la estimulación a 200 Hz. En el panel B se ilustra la respuesta inhibitoria que indujo la estimulación en otro punto del rvCN, sobre una neurona CL diferente. Se aprecian los silencios transitorios observados tras los estímulos eléctricos aplicados tanto a baja como a alta frecuencia, a 1 y 100 Hz, respectivamente.

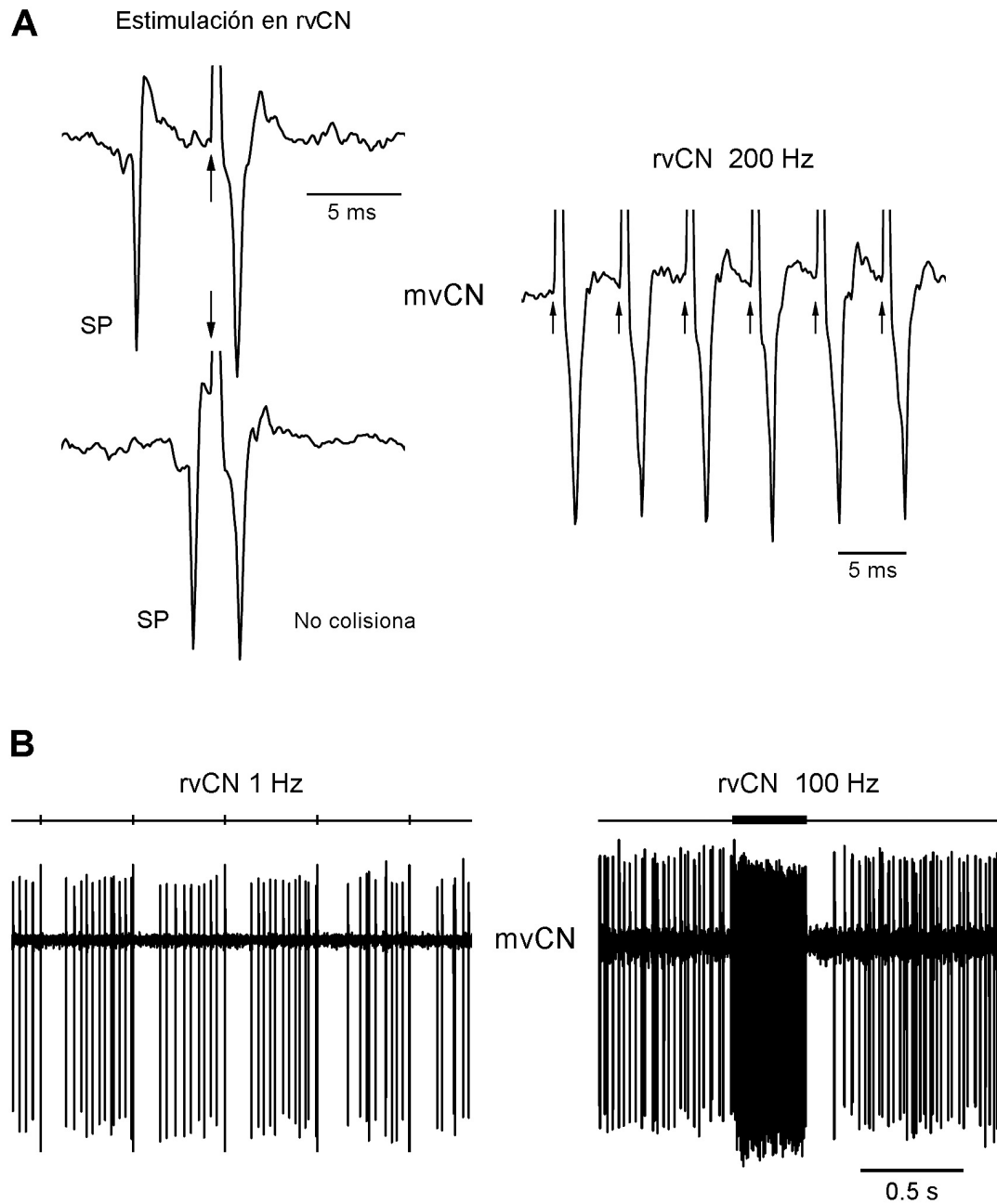


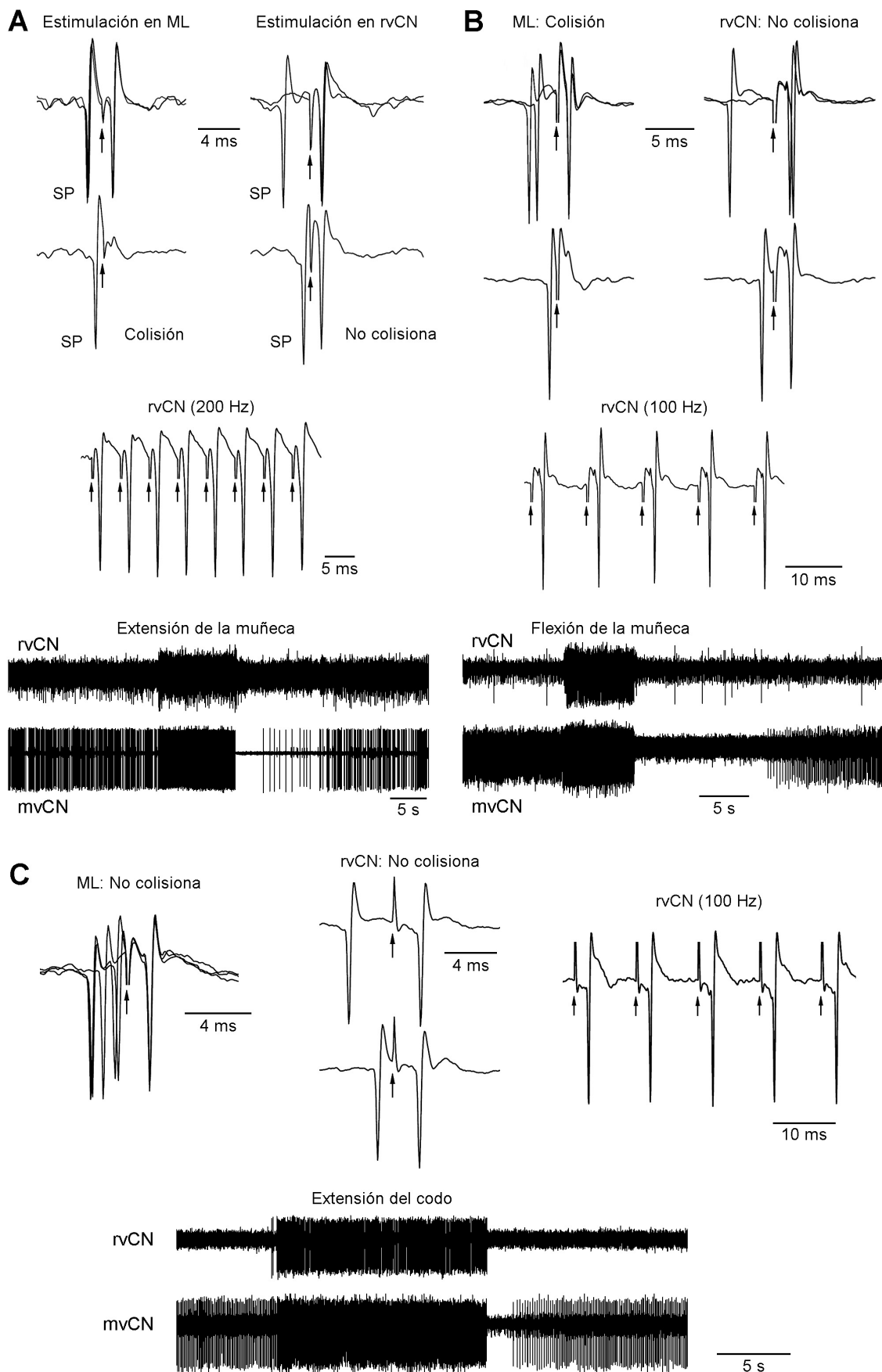
Figura 34. Efectos excitatorios e inhibitorios de la microestimulación en el rvCN, sobre la actividad de las neuronas del mvCN. **A** y **B**, dos células CL diferentes. **A**: respuesta ortodrómica inducida por la estimulación en el rvCN que no colisionó con una espiga espontánea (SP), aunque siguió fielmente la estimulación a 200 Hz. **B**: la estimulación rostral provocó un silencio transitorio tras el estímulo, que se observó después de los estímulos aplicados tanto a baja (1 Hz, izq.) como a alta frecuencia (100 Hz, dcha.).

4.7.- Registros simultáneos en el rvCN y en el mvCN de la actividad inducida por la estimulación mecánica del campo receptor

Campos receptores solapados y no solapados, excitatorios e inhibitorios

En 8 experimentos se estudió si los efectos observados en las neuronas del mvCN tras la microestimulación del rvCN estaban condicionados por la localización del campo receptor que activaba las dos neuronas registradas simultáneamente. Es decir, si la estimulación en un área del rvCN que presentaba un determinado campo receptor propioceptivo, ejercía un efecto diferente dependiendo de si el campo receptor de la neurona registrada simultáneamente en el mvCN, coincidía o difería con el de la célula registrada a través del electrodo rostral. Se obtuvieron diferentes combinaciones de registros simultáneos en los que la respuesta a la estimulación de los campos receptores propioceptivos del mvCN y del rvCN, se provocó mediante el movimiento pasivo de una única articulación. Se constató que la naturaleza de las respuestas inducidas por la estimulación eléctrica en el rvCN, variaba dependiendo del lugar en el que se ubicase el campo receptor de las dos neuronas registradas simultáneamente. Se consiguieron pares de registros en los que tanto la célula del mvCN como la del rvCN se activaban por el movimiento de la misma articulación (Fig. 35A, B, C). Se registraron 13 células del rvCN y 20 del mvCN que presentaron campos excitatorios solapados: respondieron a la estimulación de músculos activados por el movimiento de la misma articulación independientemente de que los receptores estuviesen localizados en músculos agonistas o antagonistas. En estos casos, la microestimulación a través del electrodo de registro del rvCN indujo, siempre, respuestas excitatorias en las neuronas CL (Fig. 35A, B) y nCL (Fig. 35C) del mvCN.

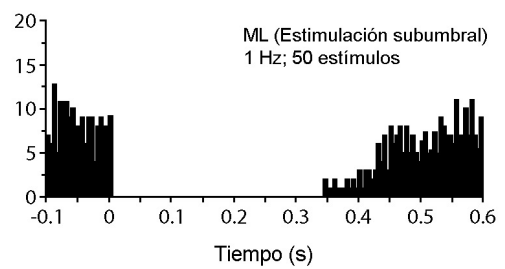
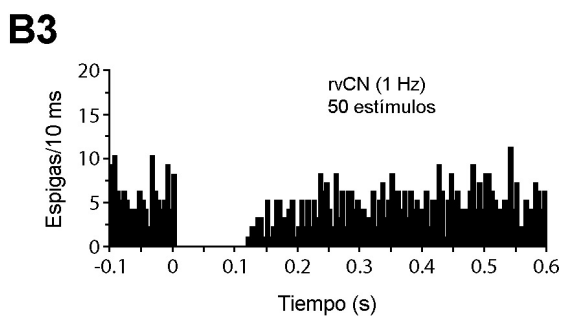
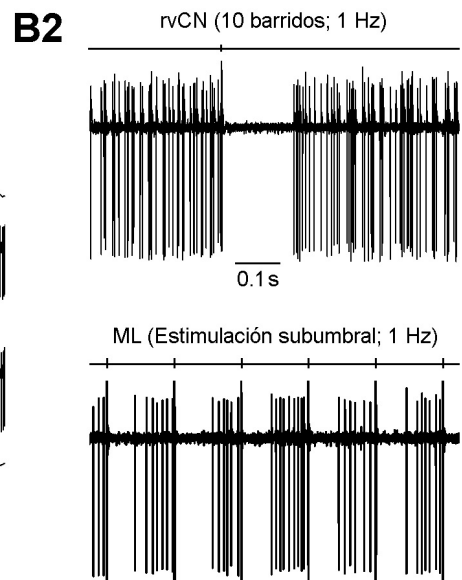
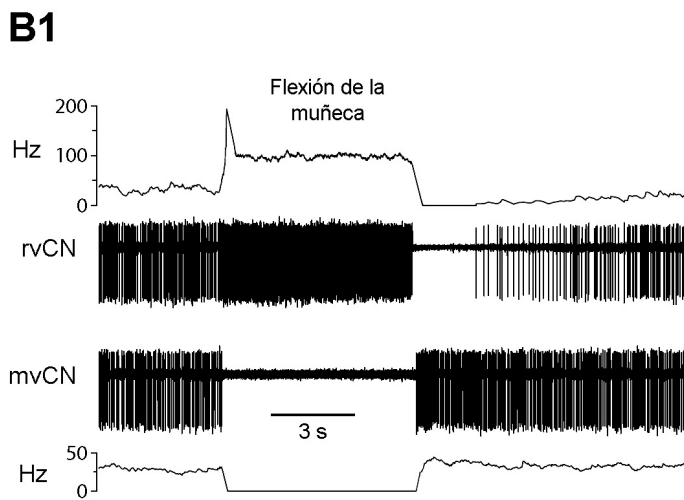
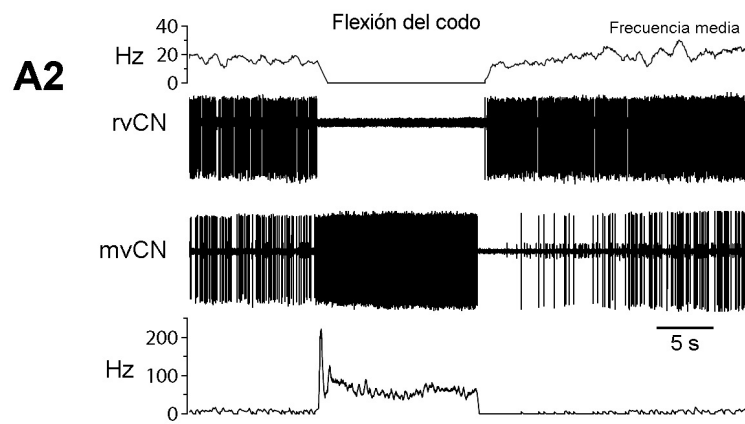
» **Figura 35.** Los registros simultáneos demostraron que siempre que las células del mvCN y las del rvCN tienen sus campos receptores excitatorios en la misma articulación, la microestimulación en el rvCN activó a las neuronas del mvCN. Los registros ilustran el comportamiento de dos neuronas CL (**A** y **B**) y el de una nCL (**C**). **A:** una célula del mvCN activada antidrómicamente desde el ML (colisión arriba, a la izq.) y que respondió a la extensión de la muñeca (registro inferior), presentó respuestas ortodrómicas a la estimulación en un punto del rvCN que también respondió a la extensión de la muñeca (registro superior). La neurona del mvCN siguió la estimulación de hasta 200 Hz en el rvCN, pero la respuesta no colisionó con las espigas espontáneas (SP; arriba, dcha.). **B:** otra célula CL del mvCN (colisión arriba, izq.) activada por la flexión de la muñeca (registro inferior), presentó una respuesta excitatoria a la microestimulación en un punto del rvCN que respondió a su mismo campo receptor (registro superior). La respuesta a la estimulación en el rvCN no colisionó con la actividad espontánea (arriba, dcha.) y siguió la estimulación a 100 Hz. **C:** una célula nCL (no hay colisión con la espiga espontánea; arriba, izq.) se activó monosinápticamente por la estimulación en un punto del rvCN (no colisiona y sigue 100 Hz) que presentó su mismo campo receptor (extensión del codo; registros de la parte inferior).



En otra muestra distinta, el campo receptor excitatorio de cada célula se encontraba en articulaciones diferentes (Fig. 36A, B). Los registros simultáneos de 24 células del rvCN y 32 del mvCN, mostraron campos receptores no solapados (por ejemplo, excitatorio para la célula del rvCN e inhibitorio para la del mvCN). Este patrón se observó únicamente cuando los campos receptores excitatorios de las dos neuronas estaban localizados en músculos que actuaban en articulaciones diferentes (Fig. 36; registros pareados de los paneles A2 y B1). Bajo estas condiciones, cuando se aplicó la microestimulación en 10 áreas del rvCN, se indujeron silencios transitorios en la descarga de 14 neuronas del mvCN con campos receptores diferentes a los de las células rostrales. Los silencios se prolongaron entre 100 y 300 ms después del estímulo. (Fig. 36B2 trazo superior: superposición de 10 barridos; 36B3 izq.: histograma periéstímulo).

Los silencios provocados por la estimulación del rvCN fueron de menor duración que los observados tras la estimulación en el ML (registro; panel B2 trazo inferior), los cuales se prolongaron durante 300 – 500 ms (panel 36B3 dcha.).

» **Figura 36.** La estimulación en el rvCN inhibió a las neuronas del mvCN registradas simultáneamente, cuando los campos receptores de las neuronas del mvCN y los de las células del rvCN se encontraban en articulaciones diferentes. **A** y **B** dos neuronas distintas. **A1**: identificación antidrómica de una célula CL del mvCN (colisión, izq.; estimulación a alta frecuencia, dcha.) que responde a la flexión del codo (**A2**, registro inferior). La flexión del codo silenció la actividad de otra neurona registrada simultáneamente en el rvCN (**A2**, registro superior). **B**: La flexión de la muñeca activó a una neurona del rvCN e inhibió a otra célula CL del mvCN registrada simultáneamente, que respondía a la extensión del codo (**B1**). La microestimulación a través del electrodo de registro del rvCN inhibió, transitoriamente, la actividad de la neurona del mvCN (**B2** arriba; superposición de 10 barridos), al igual que la estimulación subumbral en el ML contralateral (**B2** abajo). Los histogramas periéstímulo de **B3** (estímulo aplicado a tiempo 0), muestran que la estimulación subumbral en el ML (dcha.) provocó un efecto inhibitorio más duradero que la estimulación en el rvCN (izq.). Los artefactos de los estímulos eléctricos aparecen marcados con flechas en **A1**, y en **B3** se muestran sobre el registro en un canal aparte.



Cuando el sitio de microestimulación en el rvCN presentaba el mismo campo receptor que la célula registrada en el mvCN, al incrementar la intensidad de la estimulación en el rvCN hasta 200 – 300 μA de manera que la corriente difundiese a través del tejido hasta otros lugares vecinos o moviendo ligeramente el electrodo de estimulación; se observó un cambio en la estructura de las respuestas inducidas en las células del mvCN. Las nuevas condiciones de estimulación provocaron un aumento en el disparo seguido de un período de silencio (Fig. 37), lo que supuso otra prueba más de la gran especificidad espacial que presentan los efectos observados.

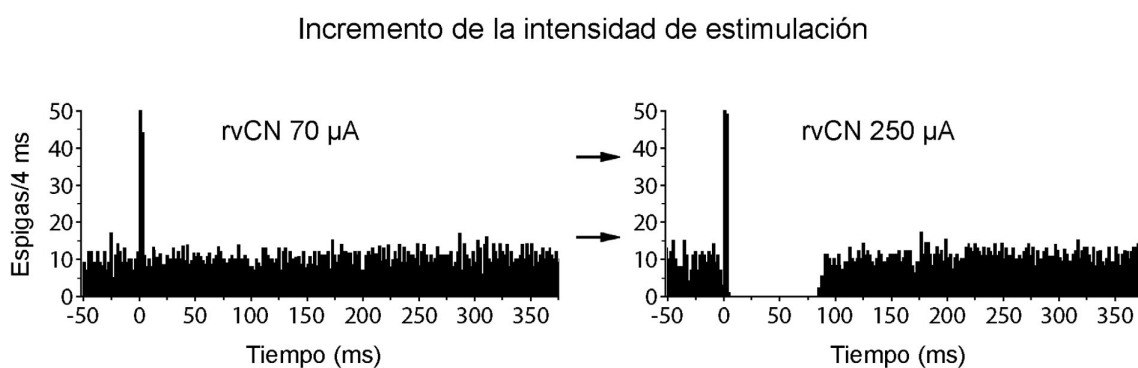


Figura 37. El incremento en la intensidad de la estimulación aplicada en un punto del rvCN, provocó un cambio en la respuesta de las neuronas registradas simultáneamente en el mvCN. El histograma periestímulo de la izquierda (estímulo aplicado a tiempo 0) muestra la respuesta sináptica, sobre la actividad espontánea, de una neurona CL del mvCN a un estímulo de 70 μA , aplicado en el rvCN. Al aumentar la intensidad del estímulo (250 μA) aparece un período de silencio después de la respuesta excitatoria. En cada histograma se representan los datos de 50 barridos; frecuencia de estimulación: 1 Hz.

Por el contrario, la microestimulación en otros 14 puntos del rvCN, cuyos campos receptores excitatorios estaban localizados en articulaciones diferentes a las que activaron a otras 18 neuronas registradas simultáneamente en el mvCN, indujo respuestas de excitación seguidas de inhibición en las células del mvCN (Fig. 38 izq.). Sin embargo, al mover 30 – 50 μm la posición del electrodo del rvCN en el eje dorso-ventral, la microestimulación en este nuevo punto hizo que las respuestas de excitación-inhibición observadas, se transformasen en efectos puramente inhibitorios que silenciaron la descarga de 6 de las 18 células del mvCN estudiadas durante los 100 – 300 ms que siguieron al estímulo (Fig. 38 dcha.), lo que nuevamente pone de manifiesto la especificidad espacial de los efectos que ejerce el rvCN sobre las neuronas del mvCN.

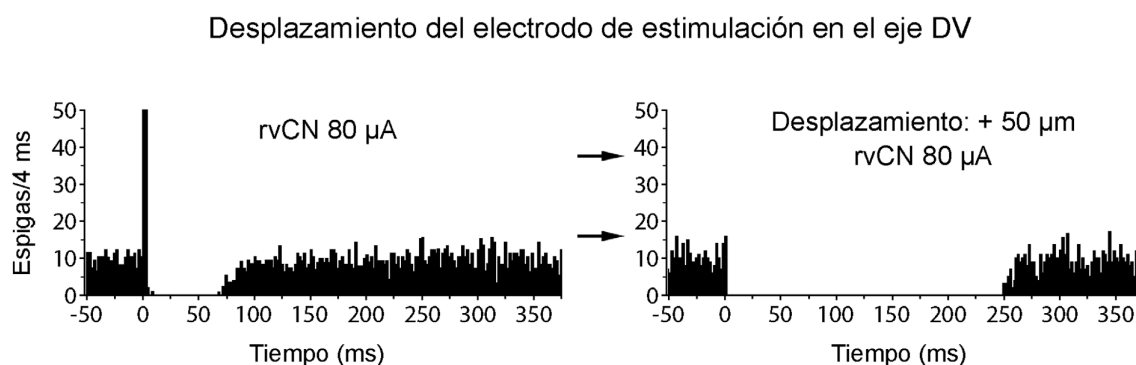


Figura 38. El efecto de las neuronas del rvCN sobre las células del mvCN presentó una marcada especificidad espacial. Un pequeño desplazamiento en la posición del electrodo de estimulación situado en el rvCN, provocó un cambio en la respuesta inducida sobre las neuronas del mvCN. El histograma de la izquierda ilustra la respuesta de tipo excitatorio-inhibitorio provocada por la microestimulación eléctrica (80 μ A), que se aplicó sobre un punto del rvCN con un campo receptor distinto al de la neurona CL del mvCN. Al desplazar el electrodo de estimulación 50 μ m en sentido dorsal (dcha.), el efecto inducido por estímulos de la misma intensidad pasa a ser puramente inhibitorio, provocando un silencio tras el estímulo que duró 250 ms. n = 50 barridos; frecuencia de estimulación: 1 Hz.

4.7.1.- Inhibición de la respuesta a la estimulación en el lemnisco medial inducida por la respuesta a la estimulación del campo receptor.

Con el mismo preparado experimental que permitió realizar los registros dobles, se pudo comprobar que la causa de los silencios observados en la actividad de las neuronas del mvCN era una verdadera inhibición provocada por la descarga de las neuronas propioceptivas rostrales al ser activadas por aferencias primarias de origen fusar. Este fenómeno, que también eliminó las respuestas antidrómicas inducidas por la estimulación en el ML en 12 de las 15 neuronas del mvCN estudiadas, sugiere que la hiperpolarización neuronal podría ser la causa de los silencios observados. Lo que implicaría la intervención de interneuronas que liberarían neurotransmisores inhibitorios que, a su vez, activarían receptores específicos presentes en la membrana de las células registradas en el mvCN. Los principales candidatos para actuar como neurotransmisores inhibitorios en el mvCN son el GABA y la Gly, por lo que el siguiente paso consistió en el estudio de los efectos provocados por su aplicación microiontóforética sobre las células del mvCN.

En la figura 39 se muestra un ejemplo del fenómeno descrito anteriormente. El trazo superior representa la frecuencia de descarga de una neurona del rvCN que respondía a la flexión de la muñeca, en medio aparece la actividad unitaria de una neurona registrada simultáneamente en el mvCN que respondía a la extensión del codo. Se indican los artefactos producidos por la

estimulación eléctrica (ML) y en la parte inferior se muestran superposiciones de las respuestas a los estímulos aplicados en el ML. Mientras la muñeca se mantiene en reposo, la neurona del mvCN presenta actividad espontánea que se ve interrumpida transitoriamente por los estímulos eléctricos (inhibición recurrente), a los que responde generando un potencial de acción (superposiciones; izqda). Al flexionar la muñeca, la célula del rvCN respondió con un incremento de la descarga (trazo superior) lo que eliminó la actividad espontánea de la neurona del mvCN y silenció su respuesta a la estimulación antidrómica (superposiciones; centro). La actividad espontánea y la respuesta al ML se recuperaron una vez que cesó la flexión y la articulación se colocó, de nuevo, en la posición inicial de reposo.

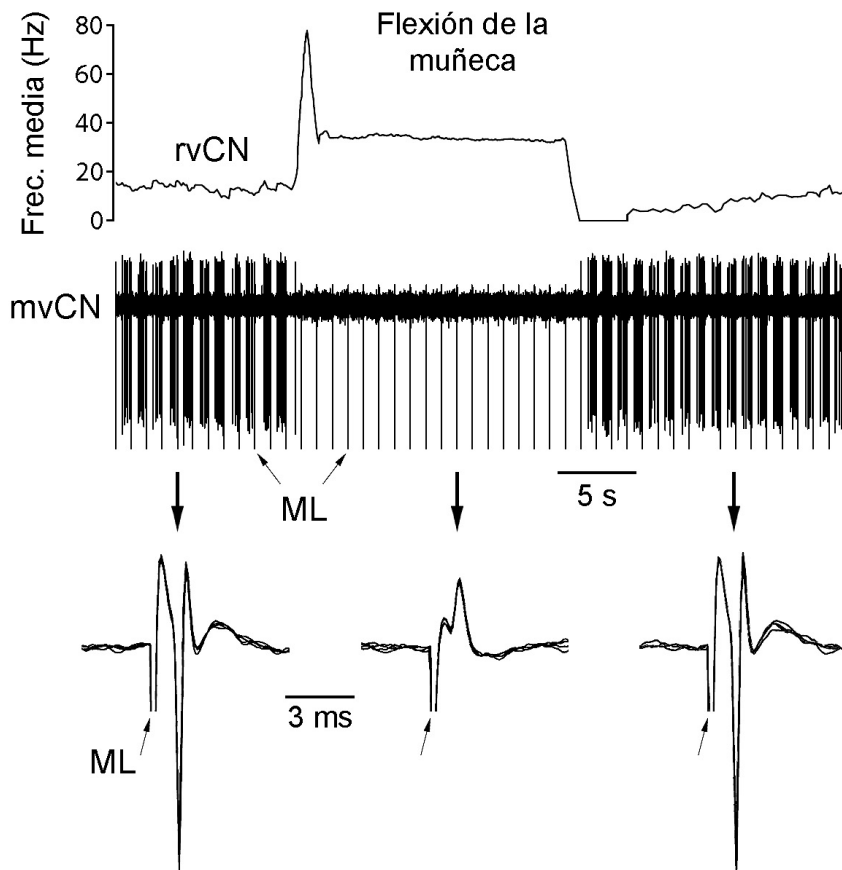


Figura 39. La activación de las neuronas propioceptivas del rvCN por la estimulación de su campo receptor, inhibió la actividad espontánea y las respuestas antidrómicas a la estimulación del ML de las neuronas del mvCN con un campo receptor distinto. De arriba abajo: frecuencia media de la descarga de una neurona del rvCN activada por la flexión de la muñeca. Registro unitario de una neurona del mvCN que responde a la extensión del codo en el que se aprecian, antes y después de la estimulación del campo receptor, los silencios en la actividad espontánea provocados por la estimulación en el ML (inhibición recurrente). La respuesta a la estimulación del campo receptor de la neurona rostral elimina la actividad espontánea de la neurona del mvCN registrada simultáneamente. La activación de la célula del rvCN también eliminó las respuestas antidrómicas a la estimulación en el ML (superposiciones de la parte inferior). Los artefactos de la estimulación eléctrica, marcados como ML, aparecen señalados con flechas.

De los resultados descritos en este apartado se extrae la conclusión de que las células del rvCN podrían actuar como interneuronas, produciendo un efecto dual sobre las células propioceptivas cuneolemniscales del mvCN: por un lado potenciación, cuando los campos excitatorios de las interneuronas del rvCN y las neuronas de proyección del mvCN están localizados en músculos que actúan sobre la misma articulación; e inhibición, cuando las neuronas del rvCN y las del mvCN presentan sus campos receptores excitatorios en músculos que activan articulaciones diferentes (*Discusión*, Fig. 53; modelo de circuito propuesto).

4.8.- Efectos de la eyección microiontoforética de GABA y de glicina sobre la actividad de las neuronas propioceptivas del mvCN

Efecto sobre la actividad espontánea y la respuesta a la estimulación mecánica

La aplicación microiontoforética de GABA (n = 26, 18 CL) y/o Gly (n = 30, 19 CL) redujo sustancialmente o silenció completamente la actividad espontánea (n = 56) e inducida (n = 26) de las 56 neuronas estudiadas en el mvCN, tanto las CL como las nCL (supuestas interneuronas). La Bicu y la Stry, sus respectivos antagonistas específicos, eliminaron este efecto.

La eyección de los dos neurotransmisores en el mvCN no sólo tuvo efectos sobre la actividad espontánea o las respuestas inducidas por la estimulación mecánica, sino que también actuó sobre las respuestas provocadas por la estimulación eléctrica aplicada a nivel del ML y del rCN.

4.8.1.- Efecto sobre la actividad espontánea.

La eyección de GABA y/o Gly sobre la actividad espontánea de las neuronas del mvCN, produjo una reducción total o muy sustancial (más de un 80%) de la descarga en las 56 células estudiadas, tanto en neuronas de proyección (n = 37) como en supuestas interneuronas. La figura 40, panel A, muestra cómo la eyección de GABA, aplicando una corriente de 2 nA, silenció la actividad de una neurona CL, y cómo la eyección concomitante de Bicu (62 nA) eliminó el efecto inhibitorio. Un efecto análogo se observó con la aplicación de Gly y Stry sobre la actividad espontánea de una neurona nCL (panel B). En este caso, la eyección de Gly (5 nA) eliminó, casi por completo, la actividad espontánea y la descarga se restableció al eyectar Stry simultáneamente (60 nA).

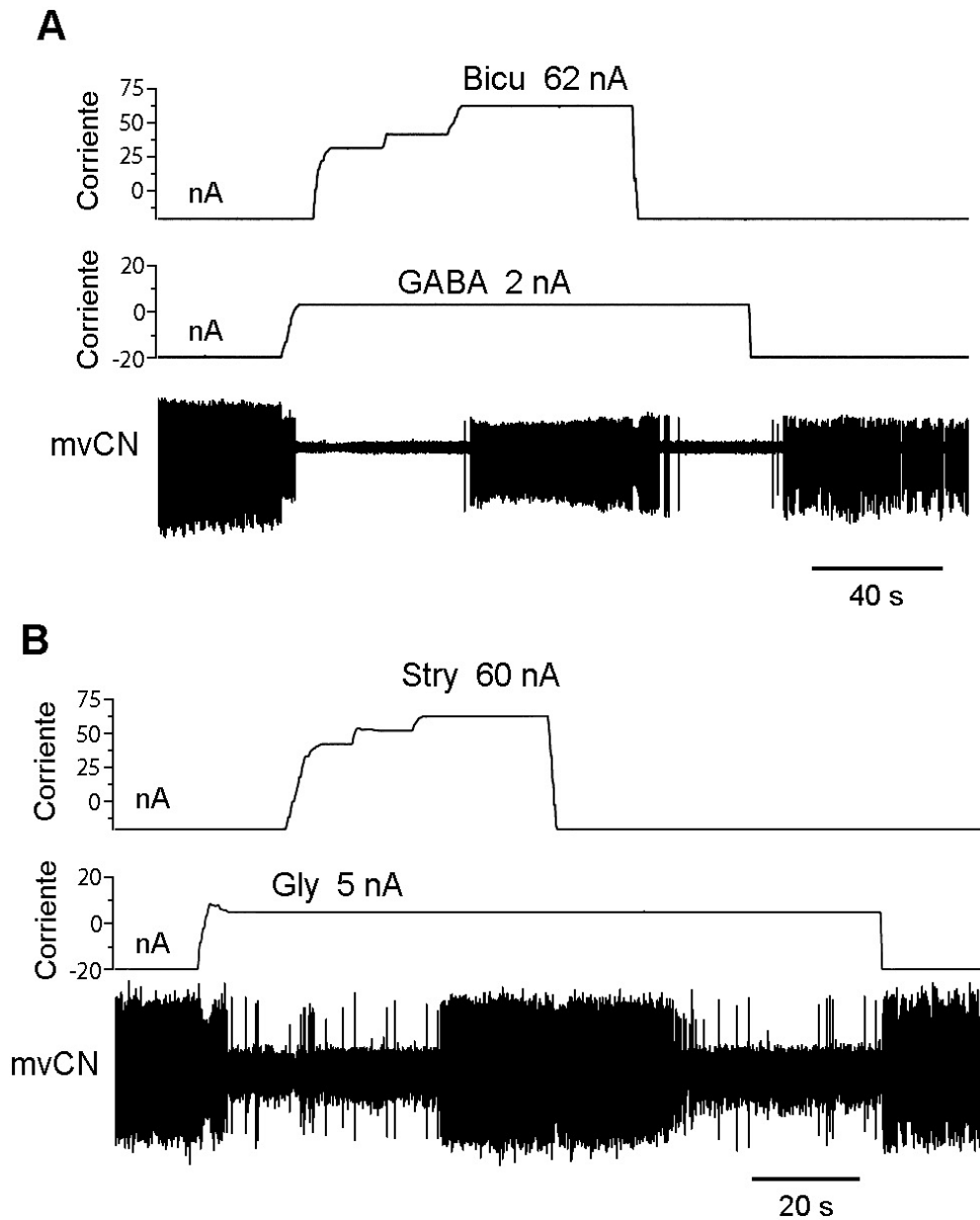


Figura 40. La eyección de GABA o Gly eliminó, o redujo sustancialmente, la actividad espontánea de las neuronas del mvCN, un efecto revertido por la Bicu y la Stry, respectivamente. **A:** la eyección de GABA (2 nA; trazo superior) eliminó la actividad de una neurona CL, restableciéndose la descarga con la eyección concomitante de Bicu (62 nA; segundo trazo). **B:** la eyección de Gly (5 nA) redujo, casi por completo, la actividad de una neurona nCL; un efecto revertido por la aplicación de Stry (60 nA). Corriente de retención para todos los fármacos: -20 nA.

4.8.1.1. – Efecto de la aplicación simultánea de GABA y de glicina sobre la actividad espontánea.

Cuando el GABA y la Gly se aplicaron conjuntamente sobre la actividad espontánea se sumó el efecto inhibitorio ejercido por ambos neurotransmisores, consiguiéndose la eliminación total de la descarga utilizando corrientes de eyección más bajas que las necesarias para silenciar la neurona cuando los neurotransmisores se aplicaron por separado.

Al ajustar la corriente de eyección del GABA o de la Gly, de manera que redujesen notablemente la actividad espontánea pero sin eliminarla por completo, la eyección simultánea del otro neurotransmisor silenció totalmente las 8 neuronas estudiadas (5 CL). Este efecto se ilustra en la figura 41, en la que la aplicación de GABA (10 nA; trazo superior; panel A) o de Gly (5 nA; segundo trazo) eliminaron, casi por completo, la actividad espontánea de la célula nCL del mvCN (registro en la parte inferior). Esto se tradujo en una caída de su frecuencia media de descarga representada en la figura con el tercer trazo. A continuación, en el mismo registro (ampliado en el panel B) y manteniendo la misma corriente de eyección para el GABA (10 nA), se eliminó por completo la descarga espontánea con la aplicación simultánea de Gly, eyectada con una corriente de 2 nA. Al dejar de eyectar la Gly la célula comenzó a descargar a baja frecuencia y recuperó totalmente la actividad inicial cuando cesó la eyección de GABA.

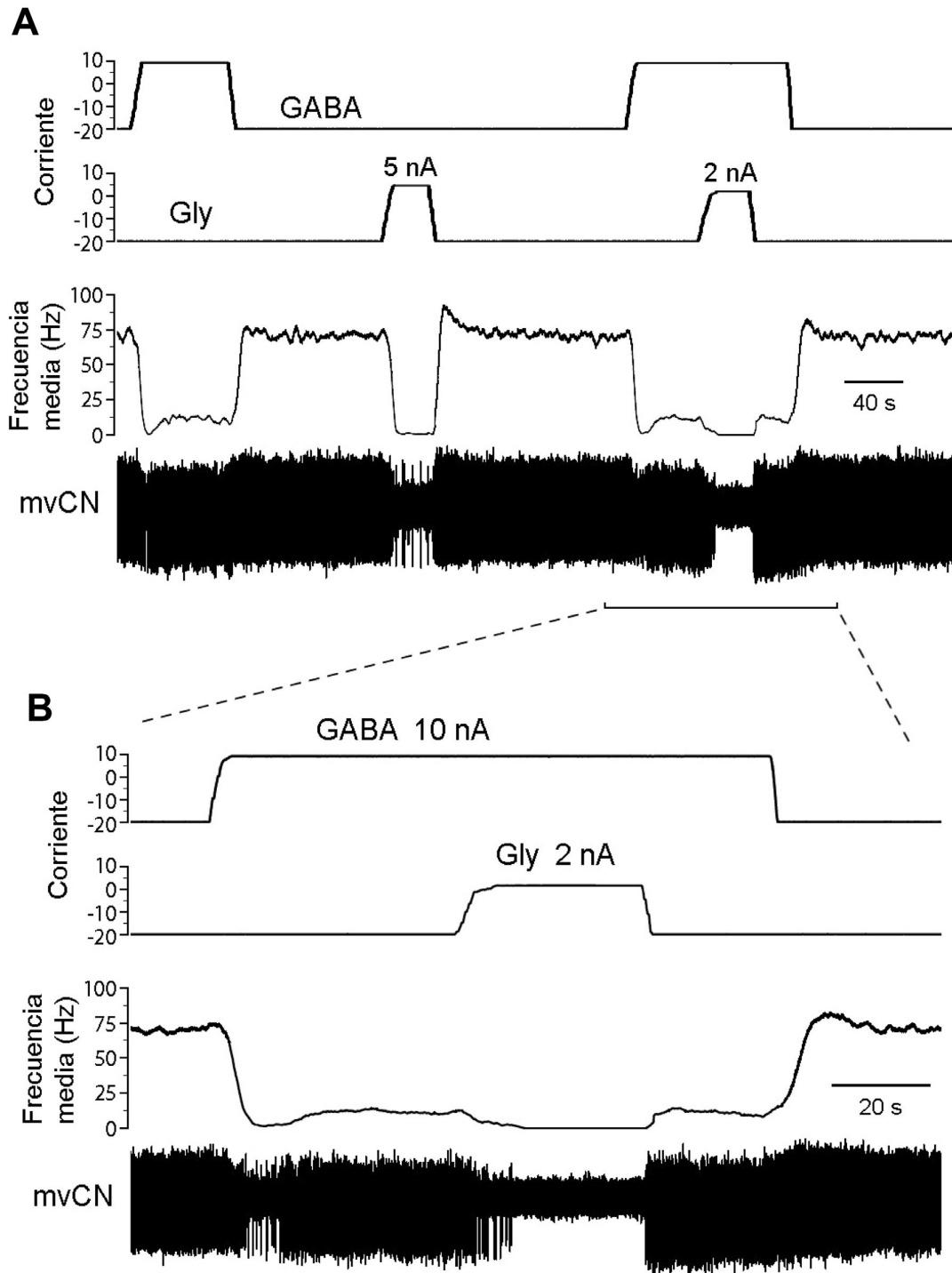


Figura 41. El efecto inhibitorio del GABA y la Gly se sumó cuando ambos neurotransmisores se aplicaron simultáneamente. **A:** de arriba abajo: corriente de eyección de GABA y de Gly (nA), frecuencia media de descarga (Hz) y actividad unitaria de una neurona nCL del mvCN. La eyección por separado de GABA (10 nA; trazo superior) o Gly (5 nA; segundo trazo) disminuyó notablemente, pero no por completo, la actividad espontánea de la neurona. Nótese el marcado descenso de la frecuencia media provocado por ambos neurotransmisores (tercer trazo). Ampliado en **B**, eyección simultánea de GABA (10 nA) y de Gly (2 nA) que consiguió eliminar, completamente, la descarga de la neurona.

4.8.2.- Efecto sumatorio del GABA y de la glicina sobre la respuesta inducida por la estimulación mecánica del campo receptor.

La ráfaga descargada durante la fase dinámica de la respuesta al estiramiento presentó una mayor resistencia al efecto de los neurotransmisores que la fase estática o la actividad espontánea, y se necesitaron corrientes de eyección de hasta 35 nA para la Gly o 50 nA en el caso del GABA para eliminar la ráfaga por completo cuando los dos neurotransmisores se eyectaron por separado. Pero al eyectarlos simultáneamente sobre la respuesta al campo receptor de las 8 neuronas estudiadas, se sumó el efecto inhibitorio de ambos neurotransmisores al igual que cuando se aplicaron conjuntamente para estudiar su efecto sobre la actividad espontánea. Tras ajustar la corriente de eyección para uno de los neurotransmisores (GABA o Gly), de manera que sólo se mantuviese la respuesta dinámica, la eyección simultánea del otro neurotransmisor eliminó totalmente la respuesta inducida por el estiramiento pasivo del músculo. Las corrientes necesarias para eliminar por completo la respuesta cuando el GABA y la Gly se eyectaron simultáneamente fueron, de media, un $55 \pm 8.5\%$ menores que las necesarias para obtener el mismo efecto eyectando los dos neurotransmisores por separado. El panel B de la figura 42 muestra la descarga basal y la respuesta al estiramiento, generado aplicando presión sobre el músculo con el estimulador vibrotáctil, de una neurona CL del mvCN (colisión; panel A). La respuesta presentó el patrón de descarga característico de una neurona activada por aferencias primarias *Ia* (panel B) con la ráfaga dinámica bien marcada, la fase estática en la que se mantiene la descarga y el silencio al final del estiramiento. En el panel C, la eyección de GABA, aplicando una corriente de 14 nA, eliminó tanto la actividad espontánea como el componente estático de la respuesta; sin embargo, permaneció la respuesta dinámica aunque ligeramente disminuida. La respuesta dinámica al mismo estímulo aplicado en el supuesto anterior desapareció en gran medida, aunque no totalmente, al mantener la intensidad de la corriente de eyección durante dos minutos (panel D). Pero la respuesta dinámica desapareció por completo cuando se eyectó Gly simultáneamente, aplicando una corriente de baja intensidad (3 nA; panel E). Tanto la actividad espontánea como la respuesta a la estimulación periférica se recuperaron cuando cesó la eyección de los dos neurotransmisores (panel F).

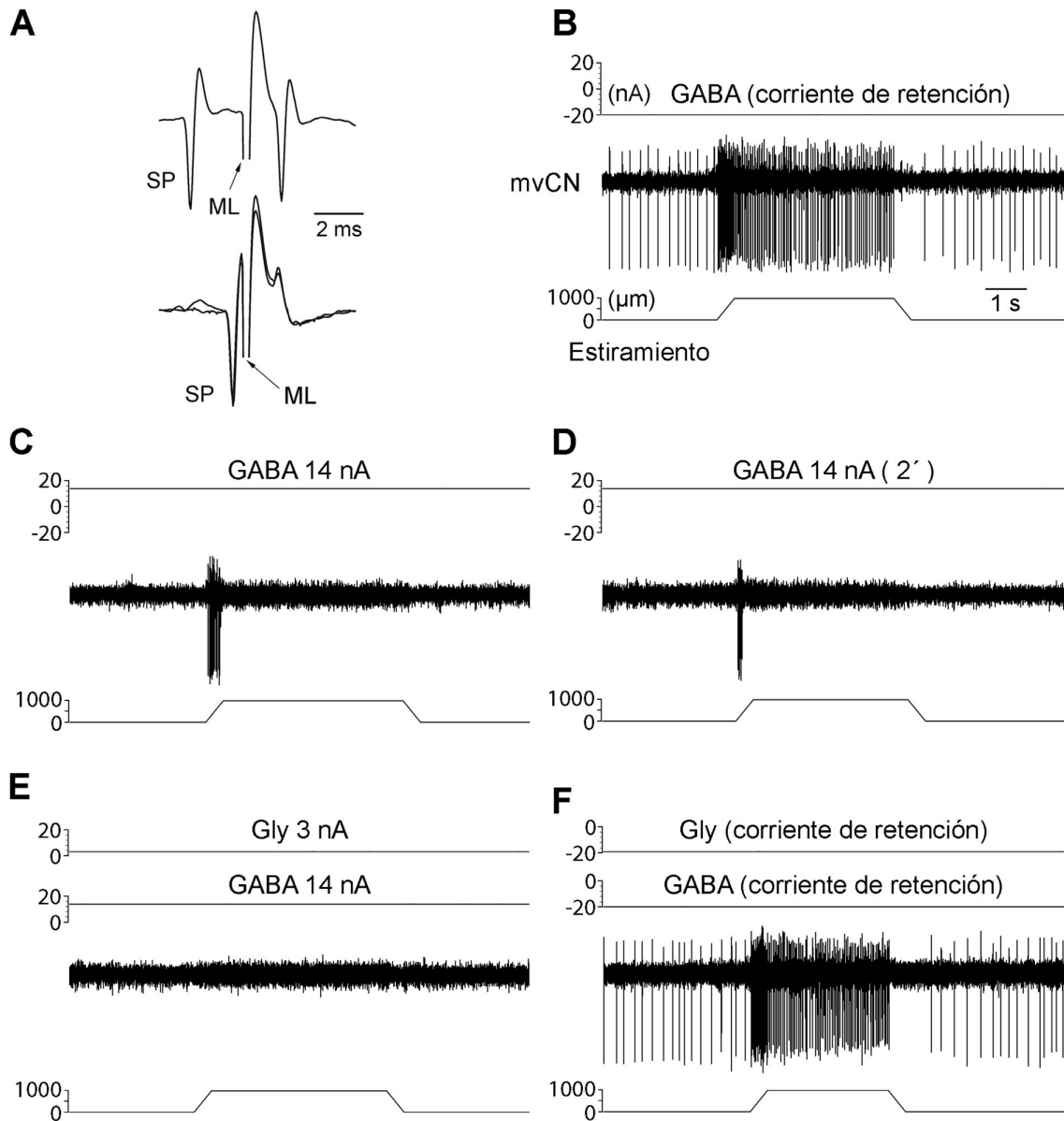


Figura 42. Efecto sumatorio del GABA y la Gly sobre la respuesta a la estimulación mecánica del campo receptor de una neurona CL del mvCN (colisión en **A**). **B:** respuesta de una neurona activada por aferencias de tipo *Ia* al estiramiento provocado por la aplicación de presión sobre el músculo en ausencia de neurotransmisores (trazo superior; corriente de retención, -20 nA). Nótese el patrón típico de descarga con una ráfaga durante la fase dinámica del estiramiento, el incremento mantenido de la descarga durante la fase estática y el silencio cuando finaliza el estímulo. **C:** una corriente de eyección de GABA de 14 nA eliminó la actividad espontánea y el componente estático de la respuesta al mismo estímulo, pero la ráfaga dinámica fue más resistente. **D:** tras 2 min. de eyección de GABA la respuesta dinámica se redujo notablemente pero no desapareció por completo. **E:** la eyección simultánea de Gly (3 nA) eliminó totalmente la ráfaga dinámica. **F:** la actividad espontánea y la respuesta a la estimulación del campo receptor se recuperaron cuando cesó la eyección de los neurotransmisores.

4.8.3.- Efecto de la eyección de bicuculina y de estricnina sobre los silencios provocados por la estimulación del lemnisco medial.

La estimulación en el ML produjo, en el 26.2% de las neuronas CL, un período de silencio que siguió a la respuesta antidrómica o a los estímulos aplicados a intensidad subumbral y presentó una duración de 200 – 500 ms (Fig. 43A y B; control). Este fenómeno, probablemente producido por un mecanismo de supresión recurrente (Kelly y Renaud, 1973c; Canedo *et al.*, 2000), se observó utilizando frecuencias de estimulación de hasta 25 Hz y se eliminó con la aplicación de Bicu (Fig. 43A) y/o Stry (Fig. 43B). Esto pone de manifiesto la implicación de interneuronas inhibitorias GABAérgicas y glicinérgicas, activadas por las colaterales recurrentes, en la modulación de la actividad de las neuronas propioceptivas del mvCN. En la figura 43 se ilustra el efecto de la aplicación microiontoforética de Bicu (panel A) y Stry (panel B) sobre la respuesta de una neurona CL del mvCN a la estimulación eléctrica en el ML. La eyección de Bicu, aplicando una corriente de 40 nA, o de Stry (53 nA) eliminó los silencios provocados por la estimulación eléctrica en la actividad espontánea de la célula.

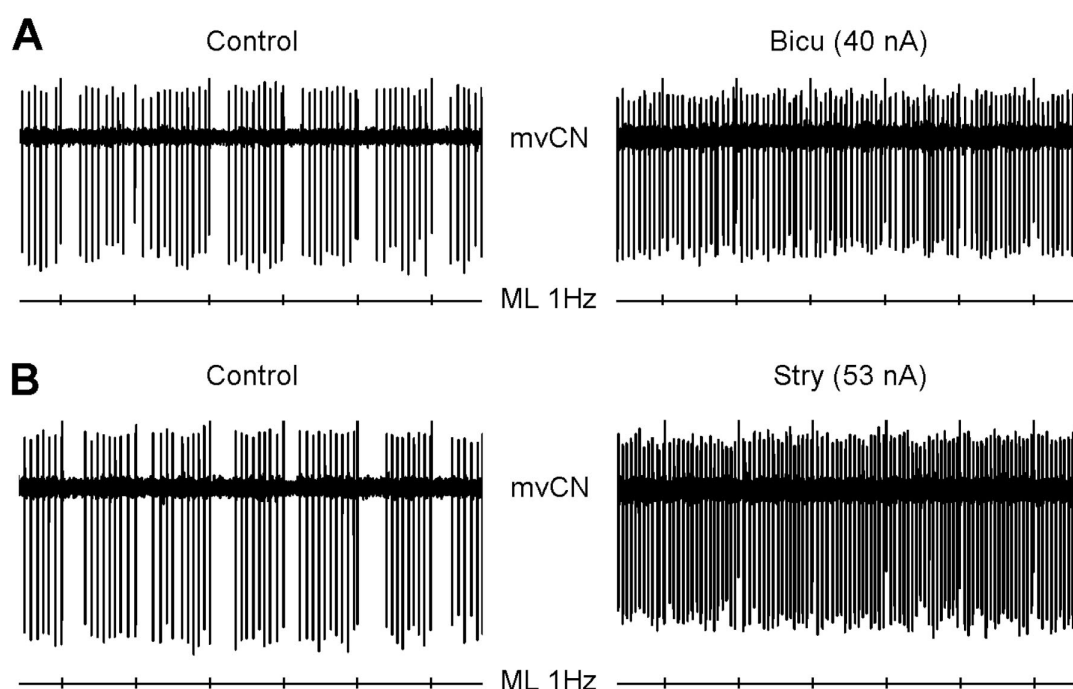


Figura 43. La Bicu y la Stry eliminaron los silencios provocados por la estimulación eléctrica en el ML. **A** y **B**, la misma neurona CL del mvCN. La eyección de Bicu (40 nA; **A**) y de Stry (53 nA; **B**) eliminó los silencios transitorios observados en la actividad espontánea de las neuronas del mvCN tras los estímulos eléctricos aplicados en el ML contralateral (control). Los artefactos que generaron los pulsos eléctricos, aplicados a una frecuencia de 1 Hz, se representan en un canal diferente bajo los registros de la actividad unitaria.

4.8.4.- Efecto sobre las respuestas a la microestimulación en el rCN.

La eyección de GABA y de Gly también eliminó las respuestas excitatorias inducidas por la microestimulación en el rvCN en las 14 células (10 CL) del mvCN a las que se le aplicaron ambos neurotransmisores. En la figura 44, la eyección de GABA con 22 nA (panel B) suprimió parcialmente la respuesta ortodrómica provocada por la microestimulación eléctrica y la eliminó por completo cuando aumentó la intensidad de la corriente de eyección (51 nA; panel C). La eyección simultánea de Bicu (40 nA) eliminó el efecto inhibitorio del GABA y restituyó la respuesta (panel D).

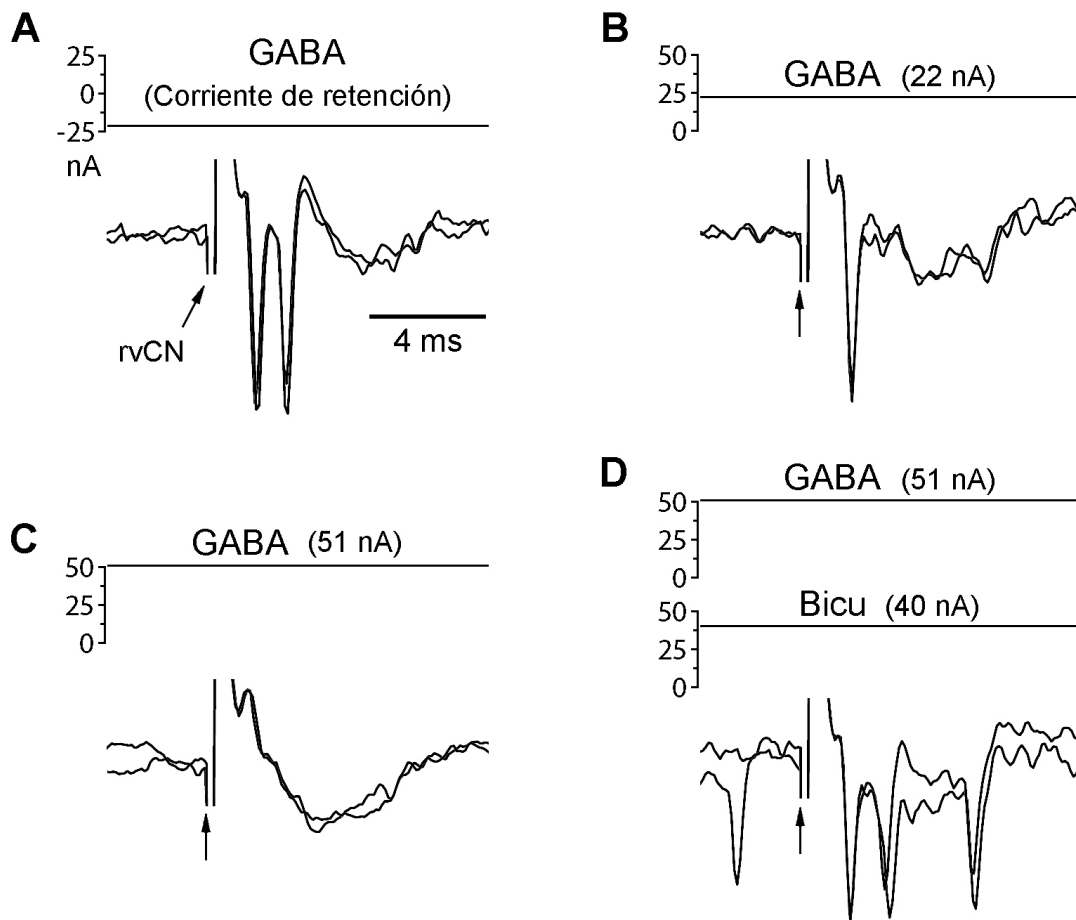


Figura 44. El GABA eliminó la respuesta excitatoria inducida por la microestimulación en el rvCN. **A:** respuesta a la estimulación eléctrica en el rvCN (75 µA) de una neurona CL del mvCN. El GABA se mantuvo retenido en el interior de la pipeta aplicando una corriente de retención de -20 nA. **B:** la eyección de GABA (22 nA) eliminó parcialmente la respuesta a la estimulación eléctrica. **C:** el aumento de la corriente de eyección de GABA hasta 51 nA eliminó totalmente la respuesta a la estimulación en el rvCN. **D:** la aplicación simultánea de Bicu (40 nA) eliminó el efecto inhibitorio del GABA restituyendo la respuesta y aumentó la excitabilidad de la neurona (nótese la aparición de una nueva espiga). Las flechas indican los artefactos provocados por la estimulación eléctrica.

En la figura 45 se ilustra un ejemplo del efecto de la Gly que eliminó la respuesta de otra neurona CL a la microestimulación en el rvCN. El panel A muestra un histograma periestímulo en el que se acumulan las respuestas a 80 estímulos aplicados a una frecuencia de 1 Hz en ausencia de neurotransmisor (control). La eyección de Gly, aplicando una corriente de 20 nA durante 0.5 minutos, redujo notablemente la respuesta inducida por la estimulación (panel B). Al aumentar la cantidad de neurotransmisor eyectado (20 nA durante 2 minutos) se consiguió la total eliminación de la respuesta (panel C), recuperándose valores similares a los de la situación control una vez que cesó la aplicación del neurotransmisor (panel D; recuperación).

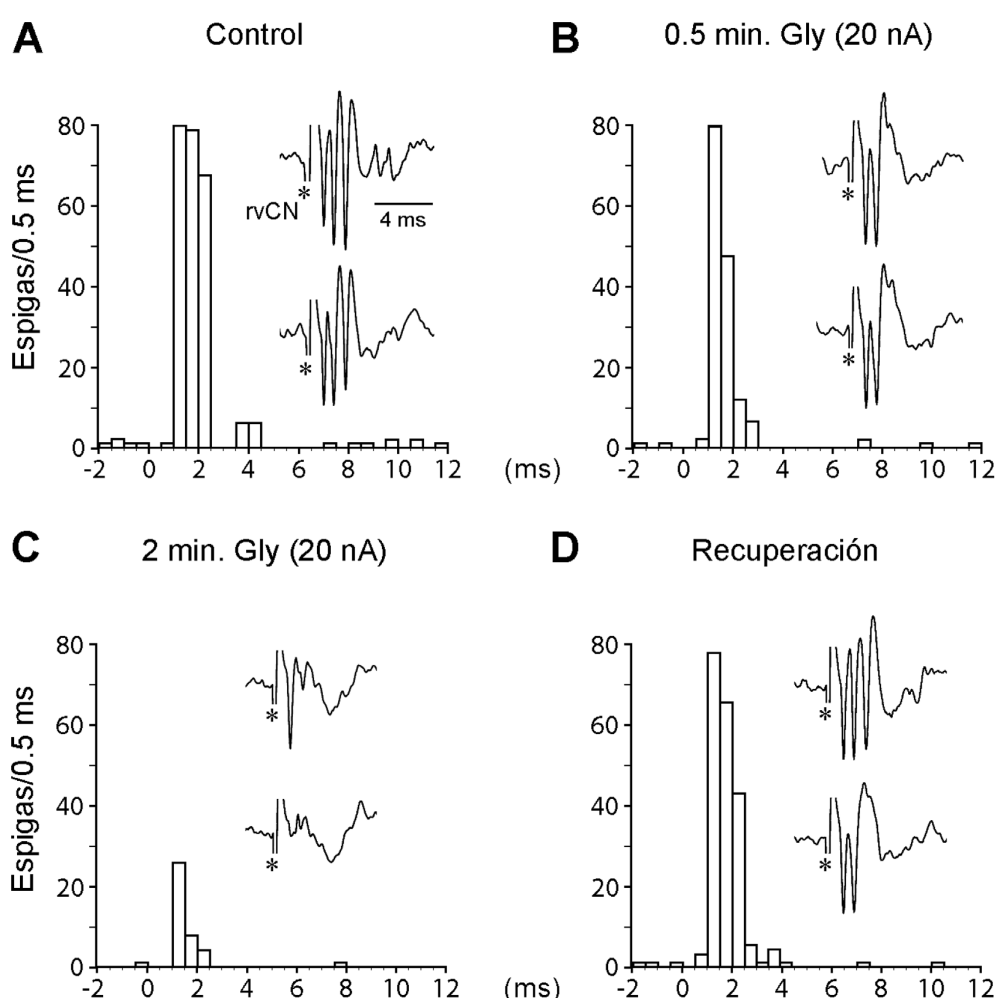


Figura 45. La Gly eliminó la respuesta excitatoria inducida por la microestimulación en el rvCN. **A:** histograma periestímulo en el que se acumulan las respuestas de una neurona CL del mvCN a 80 estímulos aplicados en el rvCN, con una frecuencia de 1 Hz y en ausencia de neurotransmisor (control). La aplicación del estímulo coincide con el tiempo cero. Se muestran registros de la actividad unitaria en los que los artefactos provocados por la estimulación eléctrica aparecen marcados con asteriscos. **B:** la eyección de Gly con 20 nA, durante 0.5 minutos, eliminó parcialmente la respuesta. **C:** después de 2 minutos eyectando Gly con 20 nA se consiguió la eliminación completa de la respuesta inducida desde el rvCN. **D:** la actividad se recuperó una vez que cesó la eyección de Gly.

La aplicación concomitante de Stry eliminó el efecto inhibitorio de la Gly sobre la respuesta a la microestimulación en el rvCN. Se ilustra un ejemplo en la figura 46 en la que la eyección de Gly (5 nA) eliminó la actividad espontánea y la respuesta inducida por la estimulación eléctrica de una neurona nCL. Se muestran de arriba abajo: las corrientes de eyección para la Stry y la Gly, el registro unitario con los artefactos provocados por la estimulación (marcados como: Estímulos rvCN) y superposiciones ampliadas de la respuesta inducida por la estimulación en las diferentes condiciones ensayadas. Tanto la actividad espontánea como la respuesta inducida por la microestimulación eléctrica (superposiciones) reaparecieron cuando la Stry se eyecciónó simultáneamente (53 nA; trazo superior) y desaparecieron de nuevo cuando cesó la eyección del antagonista. La actividad espontánea y la respuesta a la estimulación en el rvCN se recuperaron al dejar de aplicar la Gly.

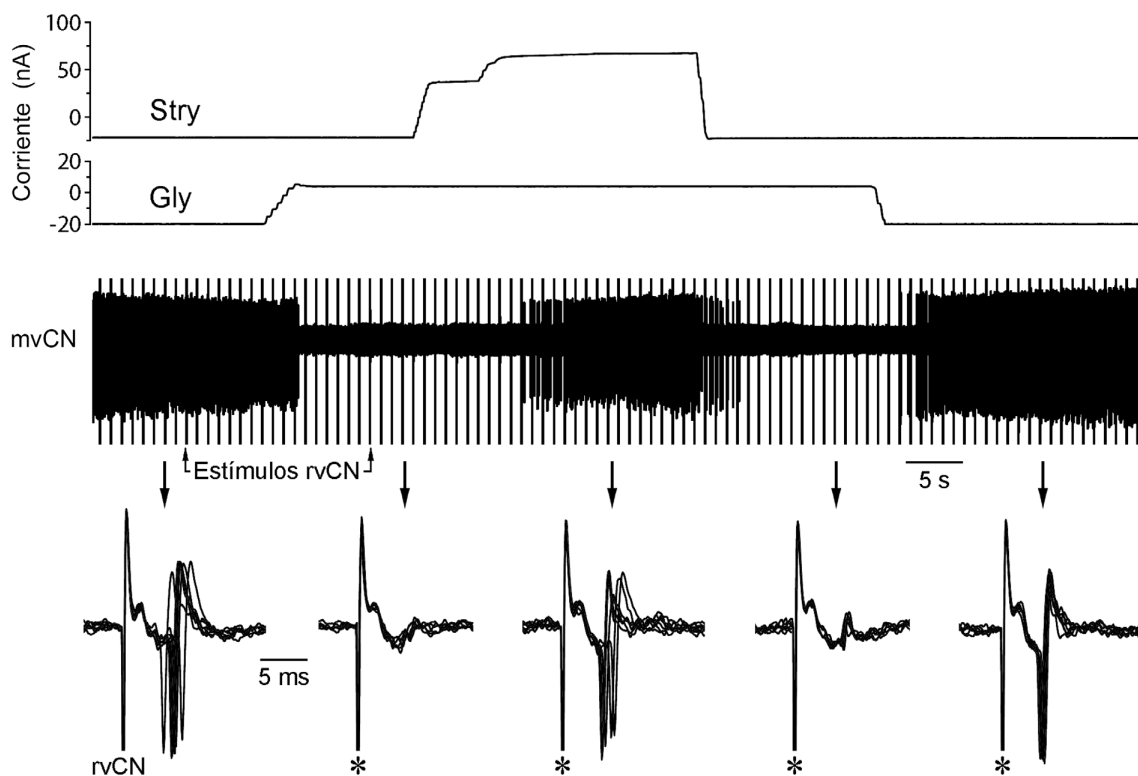


Figura 46. La eyección de Stry (53 nA) eliminó el efecto inhibitorio de la Gly (5 nA) sobre la actividad espontánea y la respuesta inducida por la estimulación en el rvCN (85 μ A) de una neurona nCL del mvCN. De arriba abajo: corrientes de eyección de Stry y de Gly; registro unitario y artefactos de la estimulación eléctrica (estímulos rvCN); superposiciones de la respuesta a la estimulación en el rvCN. Los asteriscos marcan los artefactos generados por la estimulación eléctrica.

4.8.5.- Efecto de la aplicación de bicuculina y de estricnina sobre los silencios provocados por la microestimulación en el rvCN.

Al igual que sucedía con los silencios inducidos por la estimulación del ML, la eyección de Bicu y de Stry eliminó los silencios observados en la actividad espontánea tras la microestimulación eléctrica del rvCN en las 10 células estudiadas (8 CL). Los ejemplos presentados en la figura 47 se corresponden con la actividad unitaria de dos neuronas CL del mvCN que presentaron marcados silencios tras la estimulación eléctrica en el rvCN (control) que eliminó la eyección de Bicu con 22 nA (panel A) y de Stry con 57 nA (panel B).

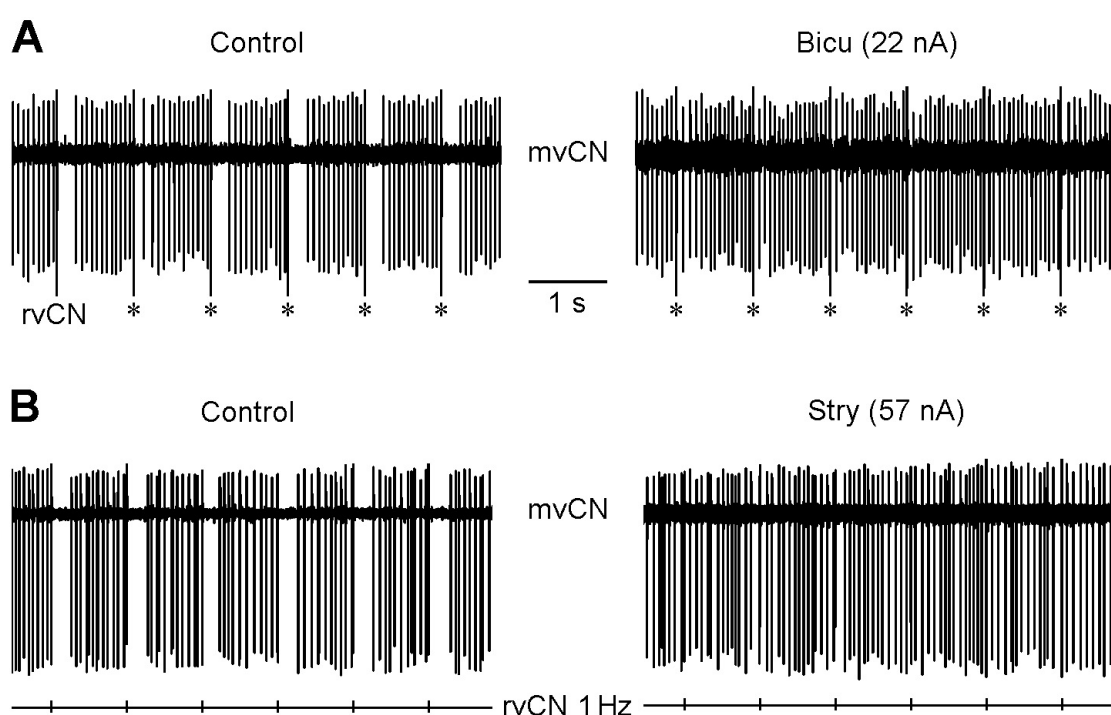


Figura 47. La eyección de Bicu y de Stry eliminó los silencios transitorios observados tras la microestimulación eléctrica aplicada en el rvCN. **A** y **B**, dos células distintas. **A**: la eyección de Bicu (22 nA) eliminó los silencios observados en la actividad espontánea tras los estímulos aplicados en el rvCN. Los asteriscos marcan los artefactos generados por la estimulación eléctrica en el rvCN. **B**: la Stry (57 nA) también consiguió eliminar los silencios provocados por la estimulación eléctrica en otra célula del mvCN. Los artefactos generados por los estímulos aplicados a la célula del panel B se grabaron en un canal aparte que se muestra bajo el registro.

4.8.6.- La bicuculina y la estricnina restauraron la actividad de las neuronas del mvCN silenciadas por la colocación de su articulación activadora en las posiciones máximas de su rango de rotación.

La aplicación de Bicu y de Stry provocó otro efecto sobre las neuronas propioceptivas al restaurar la actividad de las neuronas del mvCN en las que la descarga había cesado al colocar la articulación activadora en las posiciones de

máxima flexión o extensión. La mayoría de las neuronas propioceptivas presentaron actividad espontánea cuando la articulación activadora se mantuvo en posiciones que estaban dentro del rango fisiológico de su movimiento. Sin embargo, algunas de estas células dejaron de disparar cuando la articulación se colocó en las posiciones máximas del rango de rotación. En estas circunstancias la eyección de Bicu o de Stry restableció la descarga en las 9 células estudiadas.

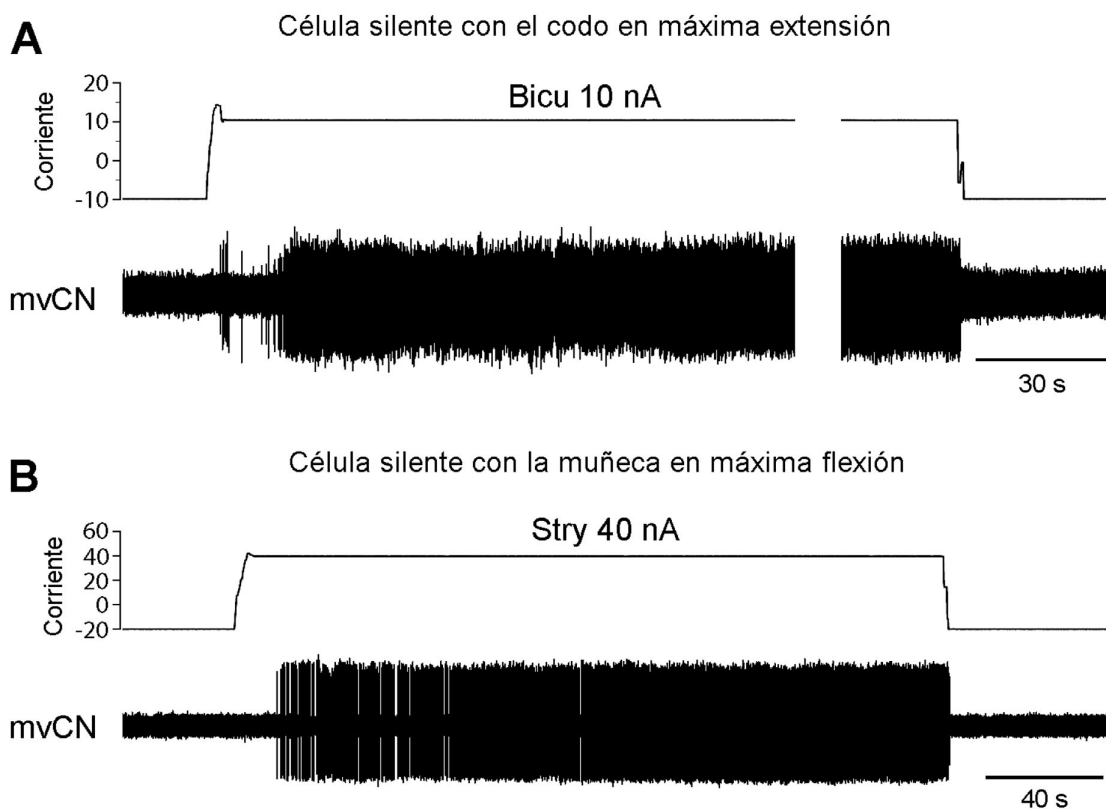


Figura 48. La eyección de Bicu y de Stry restauró la actividad de las neuronas que permanecían silentes al colocarlas en posiciones máximas de su rango de movimiento. **A:** la eyección de Bicu (10 nA) provocó la descarga de una neurona que permanecía silente después de colocar su articulación activadora (el codo), en la posición de máxima extensión. **B:** 40 nA de Stry provocaron la descarga de una célula silenciada por la flexión máxima de la muñeca.

En la figura 48 se presentan dos de estos ejemplos. En el panel A, una célula que permanecía silente al mantener el codo en la posición de máxima extensión comenzó a disparar en respuesta a la eyección de Bicu (10 nA). En el panel B, la eyección de Stry (40 nA) provocó el mismo efecto sobre una célula que permanecía silente tras haber colocado la muñeca en la posición de máxima flexión.

4.8.7. - Inhibición tónica del GABA y de la glicina sobre las neuronas propioceptivas.

La aplicación de Bicu y/o Stry provocó un aumento en la actividad espontánea en las 14 neuronas estudiadas, produciéndose incrementos en la actividad en reposo de hasta un 110%. En la figura 49 se muestra el efecto de la Bicu y de la Stry sobre dos células CL del mvCN. En el panel A el registro de arriba muestra la actividad unitaria de una neurona con una descarga espontánea de 16 Hz (frecuencia media; trazo superior) y a la derecha aparece el autocorrelograma correspondiente. Tras la eyección de Bicu con 22 nA la

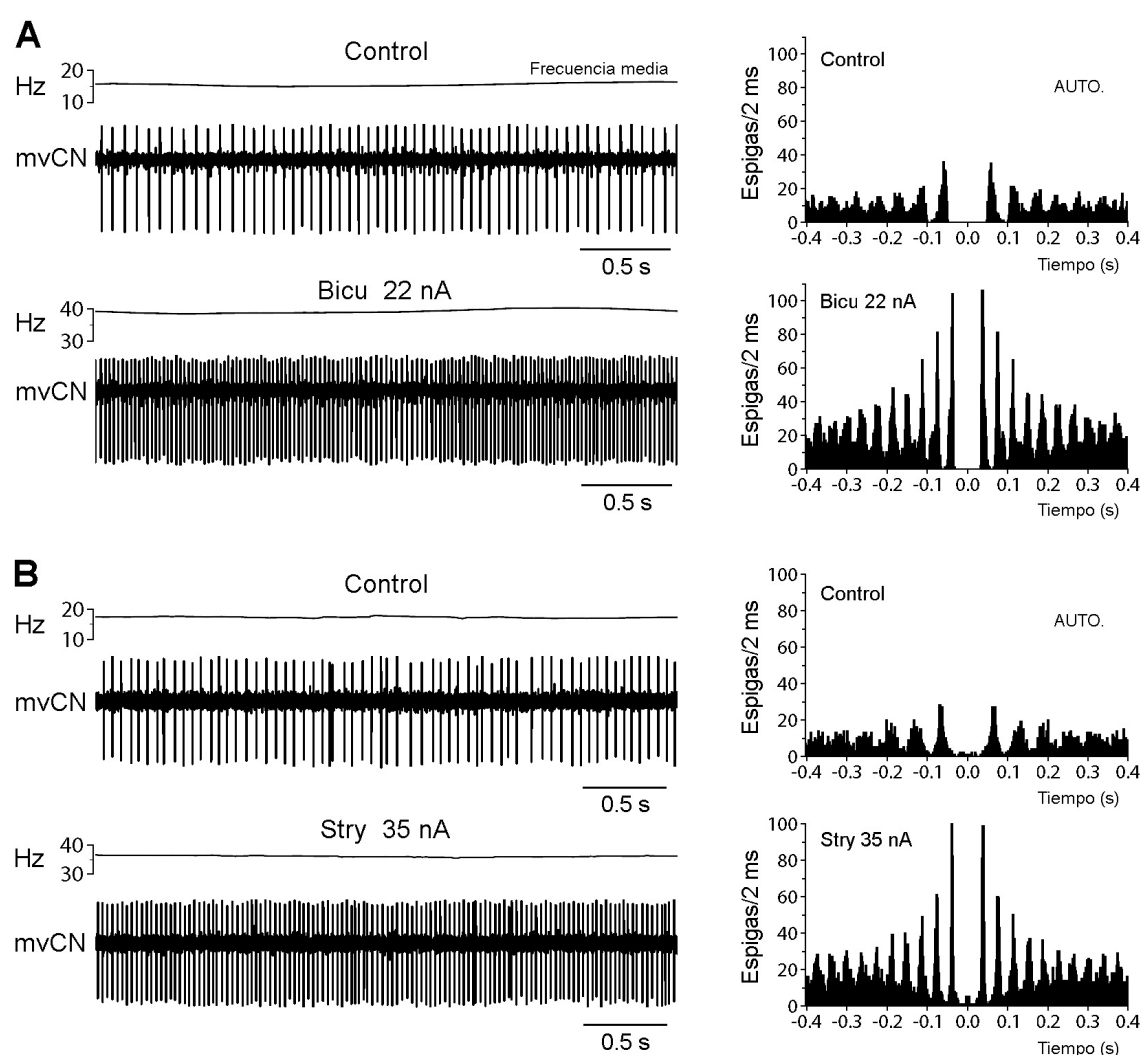


Figura 49: La eyección de Bicu y de Stry aumentó la actividad espontánea de las neuronas propioceptivas. **A** y **B**, dos neuronas CL del mvCN. En cada panel se representa la frecuencia media de descarga y la actividad unitaria en situación control y bajo el tratamiento. A la derecha se muestran autocorrelogramas de la actividad de la neurona en las dos condiciones experimentales. **A:** la aplicación de Bicu (22 nA) aumentó la descarga de la célula en un 60%, de 16 a 40 Hz. **B:** la Stry (35 nA) provocó un efecto análogo, con un incremento del 54% en la frecuencia de descarga de una neurona diferente.

descarga aumentó hasta los 40 Hz, un incremento del 60%, que se refleja en el autocorrelograma de la derecha. En el panel B se muestran los datos de una neurona tratada con Stry, cuya descarga se incrementó un 54%, pasando la frecuencia media de descarga de 17 a 37 Hz. Al comparar los autocorrelogramas adyacentes se observa con claridad el marcado aumento en el número de espigas provocado por el tratamiento.

La inhibición tónica también se puso de manifiesto cuando se aplicaron los dos antagonistas sobre la respuesta a la estimulación eléctrica, ya que la eyección de Bicu y/o Stry convirtió en supraumbral la estimulación subumbral aplicada en el rvCN en las 10 neuronas estudiadas. La estimulación eléctrica a

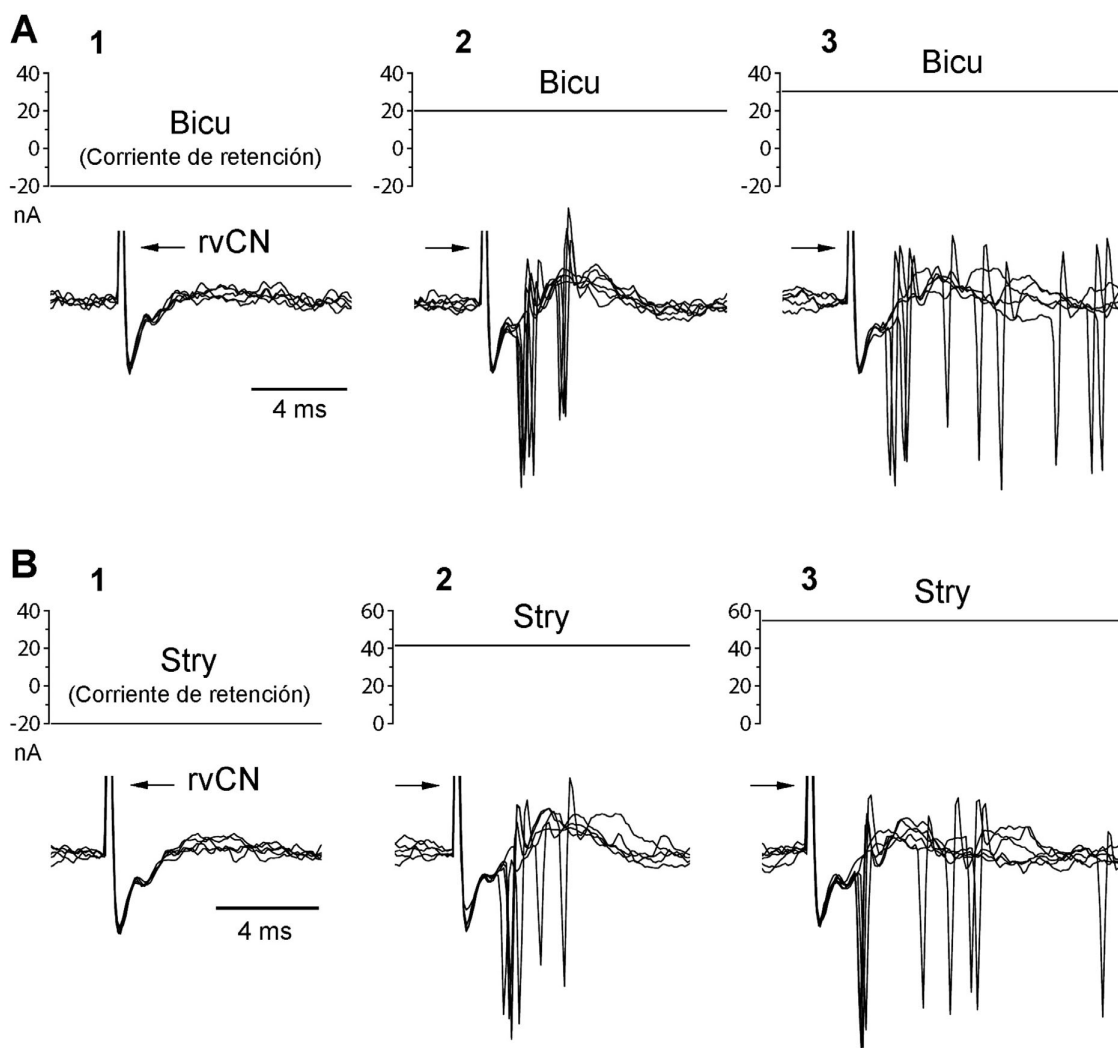


Figura 50. La eyección de Bicu y de Stry convirtió en supraumbral la estimulación subumbral aplicada en el rvCN. **A** y **B**, superposiciones de las respuestas a la estimulación subumbral de la misma célula CL del mvCN. **A**: **1**, estimulación subumbral en ausencia de Bicu (corriente de retención: -20 nA); **2**, la eyección de Bicu (20 nA) convirtió en supraumbral el estímulo subumbral; **3**, el aumento de la corriente de eyección (30 nA) incrementó, aun más, la excitabilidad de la neurona. **B**: la Stry eyeccionada a 40 y 56 nA también convirtió en supraumbral el estímulo de intensidad subumbral.

través de uno de los electrodos colocados en el rCN produjo un efecto excitatorio sobre una neurona registrada en el mvCN. A continuación, se bajó la intensidad de estimulación hasta que el estímulo fuese subumbral (Fig. 50; panel A1). La eyección simultánea de Bicu (20 nA) hizo que este estímulo se convirtiese en supraumbral provocando de nuevo la descarga de la célula (panel A2) y la aparición de otras espigas de mayor latencia cuando aumentó la intensidad de la corriente de eyección (panel A3). Se observó un efecto similar sobre la respuesta a la estimulación subumbral de la misma célula (panel B1) cuando se eyectó Stry con 42 y 56 nA (paneles B2 y B3).

4.9.- Distribución preferente de las neuronas que presentan receptores para la glicina en el núcleo *cuneatus* principal

Los resultados obtenidos en el estudio farmacológico aportaron nuevos datos sobre los mecanismos que modulan la actividad de las neuronas propioceptivas del CN y algunos tan relevantes como el efecto inhibitorio directo que ejerce la Gly sobre las neuronas CL del mvCN, un rasgo que las diferencia de las neuronas cutáneas del mdCN. Para ahondar en el estudio de estas células, se estudió la distribución y algunos aspectos morfológicos de las neuronas propioceptivas que presentan el GlyR en las dos regiones del CN estudiadas. Para ello se realizó un estudio inmunohistoquímico, empleando un anticuerpo específico para el GlyR, que abarcó la totalidad del CN principal, tal y como se detalla en el *apartado 3.11 de Materiales y métodos*. Se observaron células marcadas en el mCN, de morfología redondeada, dispuestas de manera circular alrededor del área de los agregados o *clusters*, y también se marcaron neuronas de morfología triangular, multipolar y fusiforme que no se organizan en agregados y ocupan posiciones más ventrales. Las neuronas que presentaron un marcaje positivo para el anticuerpo anti-ratón empleado mostraron una distribución homogénea en las diferentes regiones. En la figura 51 se presentan dos ejemplos de secciones coronales, una correspondiente al rCN, 2 mm por delante del óbex y otra del mCN, 2 mm por detrás del óbex. Se puede observar la distribución y la morfología de las neuronas inmunorreactivas en las dos regiones del CN principal. En el panel A se presenta una microfotografía general del mCN, situado entre el Sp5 y el mGN, en la que se aprecian las dos áreas en las que se divide el núcleo a este nivel. En la ampliación de la derecha se muestra con mayor detalle el mdCN con los agregados celulares y el mvCN en la base del núcleo, que presenta un aspecto

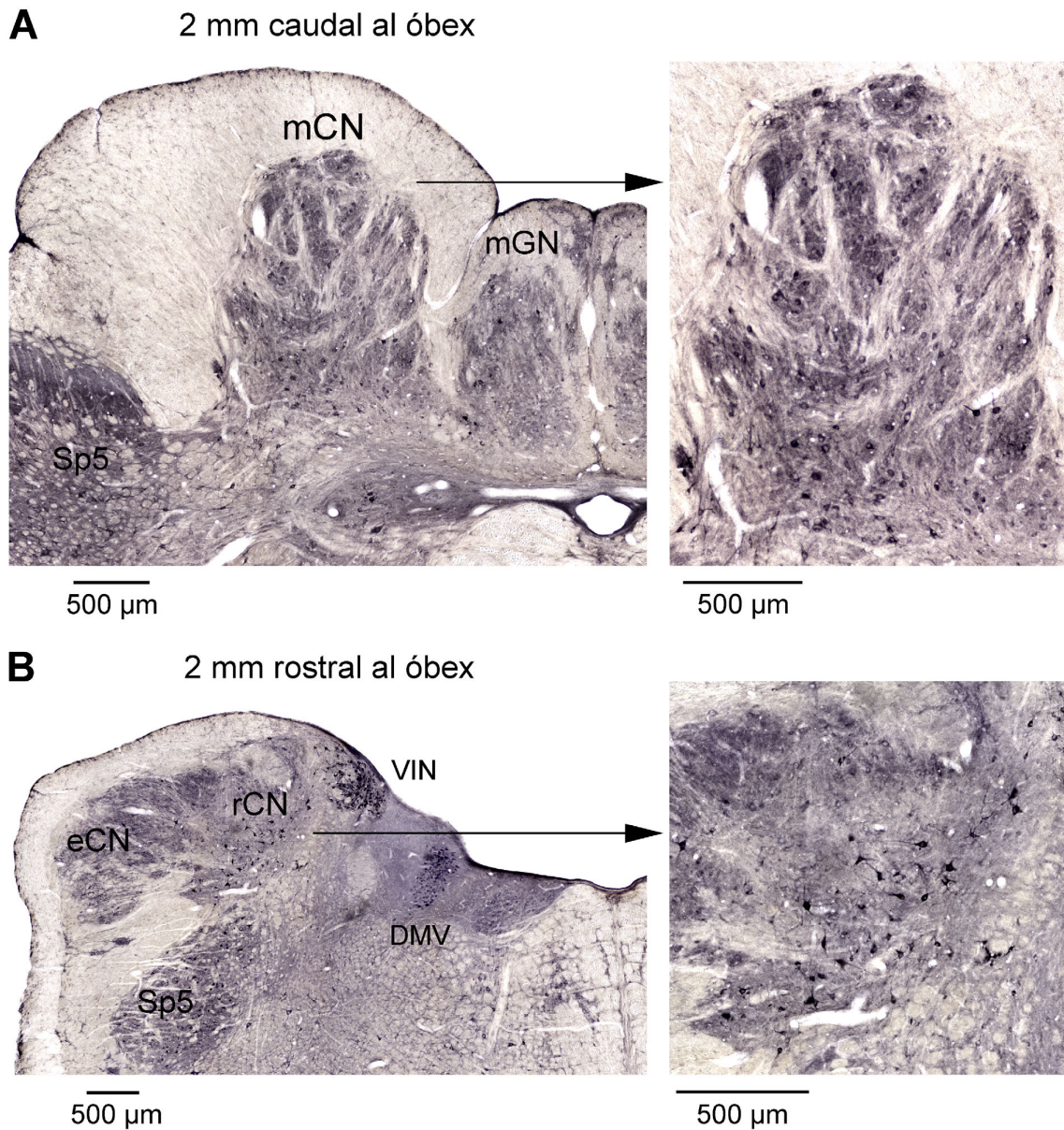


Figura 51. Las neuronas que presentan el GlyR aparecen distribuidas por todo el CN principal. **A** y **B**, dos secciones coronales (ampliadas a la derecha) realizadas 2 mm por detrás (**A**) y 2 mm por delante (**B**) del óbex en las que se distinguen, marcadas en oscuro, las neuronas que presentan el GlyR. En la ampliación de **A** se aprecian con detalle, en la parte dorsal, unas zonas más intensamente teñidas dentro de las cuales aparecen agrupadas las células marcadas bordeadas por zonas más claras en las que no se aprecian células positivas. Estas estructuras constituyen la región de los agregados celulares del mdCN. En la parte ventral, se observa una región de tinción más homogénea que se corresponde con la base reticular, en la que las neuronas marcadas se distribuyen de forma dispersa. **B**: las neuronas marcadas son más abundantes en el rvCN y en el detalle ampliado se aprecia con claridad su característica morfología triangular y radial, así como su distribución reticular. Calibración: 500 µm. Abreviaturas: CN, núcleo *cuneatus*; DMV, núcleo motor dorsal del vago; eCN, núcleo *cuneatus* externo; GN, núcleo *gracilis*; rCN, núcleo *cuneatus* rostral; Sp5, núcleo del espinal del trigémino; VIN, núcleo vestibular inferior.

reticular. Se puede distinguir la morfología redondeada de las neuronas marcadas en el área de los agregados, frente a las neuronas triangulares, radiales y fusiformes que aparecen en el mvCN.

El panel B es una sección perteneciente al rCN, 2 mm por delante del óbex, en la que también aparece el eCN ocupando una posición adyacente al rCN en su parte lateral. En la ampliación se muestra un detalle del rvCN donde se distingue claramente la morfología triangular y radial de las neuronas marcadas, así como su distribución reticular.

Hay que destacar que en el corte rostral se observa un marcaje especialmente intenso en dos estructuras relacionadas con la vía motora, como son el núcleo motor dorsal del vago (DMV) y el núcleo vestibular inferior (VIN) (Fig. 51B, izq.). También es interesante comentar el marcaje escaso y poco intenso que se aprecia en el eCN, una estructura que contiene, principalmente, neuronas activadas por aferencias primarias propioceptivas y que, a su vez, envían axones al cerebelo a través del tracto cuneocerebeloso.

Estos resultados muestran que en los DCN se expresan las subunidades α de los GlyRs sensibles a la Stry, como ya se había descrito previamente mediante métodos inmunohistoquímicos utilizando el anticuerpo monoclonal mAb4a que reconoce un epítipo común a todas las variantes de las subunidades α de los GlyRs (Pfeiffer *et al.*, 1984; Schöder *et al.*, 1991).

Como ya se ha expuesto al inicio de este apartado, las neuronas que presentan el GlyR se distribuyeron homogéneamente por todo el CN; sin embargo se observaron diferencias significativas (Fig. 52) entre el tamaño de las neuronas de morfología redondeada marcadas en la región dorsal cutánea, y las propioceptivas del mvCN que presentaron una morfología más heterogénea con formas triangulares, radiales y fusiformes (Fig. 51; ampliaciones). Las células marcadas pertenecientes a la zona de los agregados presentaron un mayor tamaño ($439 \pm 8.3 \mu\text{m}^2$; rango: 68 – 1759 μm^2) que las de la región ventral ($387.5 \pm 11.6 \mu\text{m}^2$; rango: 16.5 – 1884 μm^2 ; $P < 0.001$, Kruskal-Wallis) (Fig. 52; panel A). También se observaron importantes diferencias en el tamaño de las neuronas del mdCN y las del conjunto del rCN (panel B; blanco). Estas diferencias se mantuvieron con valores similares ($P < 0.001$) cuando se comparó por separado el rvCN con el mdCN (panel B; gris claro) y se redujeron ligeramente ($P < 0.01$) entre el rdCN y el mdCN (panel B; gris oscuro). No se encontraron diferencias significativas entre el tamaño de las neuronas marcadas en el mvCN y en el rCN.

La menor diferencia entre las neuronas de la parte dorsal de las dos regiones del CN podría explicarse por la presencia en el rdCN, especialmente en su parte más cercana al óbex, de algunas neuronas de morfología similar a las de la zona de los agregados y que, al igual que aquellas, presentan campos receptores cutáneos (Kuypers y Tuerk, 1964; Berkley *et al.*, 1986; Fyffe *et al.*, 1986a).

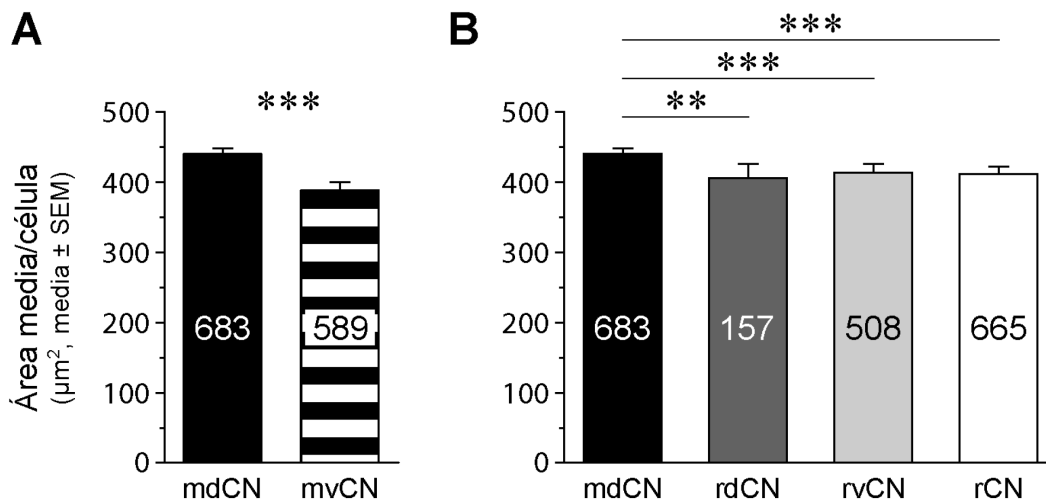


Figura 52. Tamaño de las neuronas que presentan el GlyR en las diferentes regiones del CN. **A:** comparativa entre el tamaño de las neuronas marcadas del mdCN (negro; $439 \pm 8.3 \mu\text{m}^2$) y las del mvCN (blanco y negro; $387.5 \pm 11.6 \mu\text{m}^2$); $P < 0.001$. **B:** comparativa entre el mdCN (negro) y el rdCN (gris oscuro; $P < 0.01$), el rvCN (gris claro; $P < 0.001$) y el rCN en conjunto (blanco; $P < 0.001$). Media \pm SEM; U de Mann-Whitney. Los números en las columnas indican el número de neuronas estudiadas en cada grupo.

La diferencia de tamaño observada entre las dos poblaciones de células de proyección del mCN podría ser la razón de que las neuronas cutáneas CL presenten mayores velocidades de conducción que las cuneolemniscales propioceptivas si el tamaño del soma se relaciona con el diámetro del axón y, por lo tanto, con la velocidad de conducción.

Resumen de los resultados

1.- La mayoría de las neuronas registradas en el mvCN respondieron antidrómicamente a la estimulación del ML contralateral (149/171; 87.13%). Sin embargo, de las 57 neuronas registradas en el rvCN, sólo 3 (5.26%) resultaron ser CL, lo que supone el 1.97% del total de las células CL estudiadas.

2.- Casi el 56% de las neuronas CL del mvCN (29/52) colateralizaron a la formación reticular ipsilateral, y el 19.2% colateralizó a la MLR.

3.- La velocidad de conducción antidrómica de las fibras propioceptivas cuneotalámicas fue unos 6 m/s más lenta que la de las cutáneas. Al contrario, las fibras aferentes propioceptivas condujeron 19 m/s más rápido que las cutáneas.

4.- La microestimulación eléctrica en diferentes puntos del rCN generó respuestas excitatorias o inhibitorias sobre las neuronas del mvCN; excitación cuando se microestimularon regiones con campos receptores solapados e inhibición en el caso contrario.

5.- El GABA y/o la Gly eliminaron la actividad espontánea así como la excitación inducida por la estimulación de los campos receptores.

6.- Los GlyRs se distribuyen homogéneamente por todo el CN principal, y las neuronas propioceptivas marcadas para el GlyR en el mvCN son de menor tamaño que las del mdCN.

5. DISCUSIÓN

5.1.- General

Tal y como se había descrito en estudios anteriores (Rosén, 1969a,b; Millar y Basbaum, 1975; Dykes *et al.*, 1982; Nyberg y Blomqvist, 1982, 1984; Jasmin *et al.*, 1985; Fyffe *et al.*, 1986a; Surmeier y Towe, 1987), la mayoría de las neuronas propioceptivas se localizaron en la parte más ventral del CN, tanto en su región medial como en la rostral. Las células no presentaron una organización musculotópica bien definida y cada neurona respondió al movimiento de una sola articulación.

Todas las neuronas estudiadas se activaron por aferencias primarias de origen fusar, tal como lo demuestra el efecto excitador generado por la SCh. Este efecto también reveló que el 50% de las neuronas de la muestra respondieron a la activación de fibras intrafusales estáticas de tipo b_2c , lo que sugiere que un amplio porcentaje de las neuronas propioceptivas del mvCN están relacionadas con la función postural.

El procedimiento utilizado podría sembrar ciertas dudas acerca de la especificidad de la estimulación aplicada como, por ejemplo, que la actividad registrada pudiese estar contaminada por otras aferencias profundas o por la activación de receptores superficiales. Sin embargo, las neuronas reflejaron la actividad típica de las fibras *Ia*: sensibilidad a estímulos vibratorios de alta frecuencia y activación por SCh. Además, respondieron especialmente en posiciones intermedias y habitualmente dejaron de descargar cuando la articulación se colocó en las posiciones de máxima flexión o extensión, tal como ya se había descrito (Rosén y Sjölund, 1973b; Surmeier y Towe, 1987). Esto descarta la intervención de los receptores articulares que se activan, preferentemente, en los extremos de la flexión o de la extensión de la articulación, o en posiciones cercanas a los límites de su rango de movimiento; y permanecen prácticamente silentes en posiciones intermedias (Burgess y Clark, 1969; Clark y Burgess, 1975; Millar, 1975; Tracey, 1979; Coleman *et al.*, 2003). La contribución de los receptores cutáneos también quedó descartada, ya que las neuronas no respondieron a la aplicación de soplos de aire o al tacto o presión suave aplicados en la superficie. En cuanto a la estimulación por vibración, los corpúsculos de Pacini también se activan ante estímulos vibratorios de alta frecuencia. En la pata delantera del gato, los campos receptores de las células de los DCN que reciben aferencias de los corpúsculos de Pacini están muy bien definidos y son de pequeño tamaño. Se localizan en la piel con pelo de los bordes de las almohadillas o en estructuras profundas como las articulaciones o las membranas interóseas (Sahai *et al.*, 2006). En

este trabajo, los estímulos vibratorios se aplicaron sobre músculos del antebrazo o del brazo, lo que reduce la probabilidad de que estos campos receptores fuesen activados. Además, la respuesta de los corpúsculos de Pacini, y de otras aferencias asociadas al folículo piloso, adaptan muy rápidamente, por lo que sólo se activan cuando se inicia y cuando finaliza un estímulo (por ejemplo, al aplicar y al retirar presión sobre la piel), de manera que, además de una ráfaga al principio del estiramiento, también aparece una al final (Sahai *et al.*, 2006). Las neuronas que presentaron este patrón de respuesta no se incluyeron en la muestra estudiada, si bien, se encontraron pocas células con estas características debido a que las neuronas activadas por aferencias procedentes de los corpúsculos de Pacini son escasas en el mvCN, y especialmente en el rCN (Dykes *et al.*, 1982).

5.2.- Respuestas a la estimulación del lemnisco medial. Inhibición recurrente

El 87.1% de las células registradas en el mvCN resultaron ser CL, mientras que sólo el 5.3% de las registradas en el rCN enviaron su axón a través del ML. Este alto porcentaje de neuronas CL del mvCN y la escasez de las mismas en el rCN corrobora resultados anteriores que describen el escaso número de neuronas del rCN que proyectan al tálamo (Kuypers y Tuerk, 1964; Berkley *et al.*, 1986; Surmeier y Towe; 1987). Este dato afianzó la idea sobre la que se asentó la hipótesis principal ensayada en el estudio: que las neuronas del rCN activadas por aferencias primarias de origen fusar son interneuronas capaces de modular la actividad de las neuronas propioceptivas del mvCN. Esta posibilidad ya había sido apuntada por algunos autores (Andersen *et al.*, 1964b; Kuypers y Tuerk, 1964; Lue *et al.*, 1997) basándose en evidencias electrofisiológicas y anatómicas, y reforzada por los trabajos de Berkley *et al.* (1980) y Wiberg y Blomqvist (1984) que describieron que las neuronas propioceptivas del rCN presentan características funcionales diferentes a las células propioceptivas cuneotalámicas del mvCN.

La estimulación del ML contralateral, incluso con intensidad subumbral, generó silencios transitorios en la actividad espontánea de las neuronas propioceptivas del mvCN (Figs. 27D, 36B2 y 43), que eliminó la aplicación microiontoforética de Bicuculina y/o Strychnina (Fig. 43). Este fenómeno, más estudiado en las neuronas cutáneas del mdCN (Andersen *et al.*, 1964a,c; Galindo *et al.*, 1967; Davidson y Smith, 1972; Kelly y Renaud, 1973c; Canedo *et al.*, 1998, 2000) podría deberse a un mecanismo de inhibición recurrente (Kelly y Renaud,

1973c; Canedo *et al.*, 2000). La corta latencia de las respuestas observadas descarta la participación de fibras corticofugales y sugiere la implicación de las colaterales recurrentes de los axones cuneolemniscales. Las fibras recurrentes activarían las interneuronas responsables del efecto inhibitorio que, en el caso de las neuronas propioceptivas del mvCN, pueden ser GABAérgicas y/o glicinérgicas. Esto supondría una diferencia con las neuronas cutáneas del mdCN, donde las interneuronas glicinérgicas inhiben a las GABAérgicas provocando, indirectamente, la desinhibición de las neuronas CL (Aguilar *et al.*, 2002). Los efectos recurrentes inducidos por la estimulación del ML sobre las neuronas cutáneas del mdCN pueden ser funcionalmente selectivos, activando a las neuronas CL con campos receptores similares, e inhibiendo a aquellas que presentan campos receptores diferentes (Canedo *et al.*, 2000). De forma análoga, las colaterales recurrentes de axones propioceptivos, junto con las fibras córticofugales procedentes del área 3a y/o área 4, potenciarían directamente la actividad de las células CL activadas por el movimiento de una articulación; mientras que inhibirían, a través de interneuronas GABAérgicas y/o glicinérgicas, las células CL que reciben información de otras articulaciones.

5.3.- Velocidad de conducción de las fibras lemniscales y las fibras aferentes primarias

Mientras que los axones de las neuronas propioceptivas cuneotalámicas son más lentos que los cutáneos, las aferencias primarias que activan ambos tipos celulares presentan la relación opuesta: las propioceptivas son más rápidas que las cutáneas (Fig. 32). Estos datos apuntan a que el enlentecimiento propioceptivo lemniscal, podría constituir un mecanismo que asegure la llegada simultánea de la información propioceptiva y la cutánea al núcleo VPL talámico y, posteriormente, a la corteza cerebral. Esto facilitaría los procesos de sumación imprescindibles para el procesamiento concurrente de ambos tipos de información. Con frecuencia, la información somatosensorial se genera durante movimientos que se realizan simultánea o consecutivamente y durante el movimiento se activan tanto receptores profundos como superficiales. Por lo tanto, ambos tipos de información resultan esenciales para la modulación de los programas motores generados a nivel central. Se ha publicado a este respecto que la información somatosensorial aferente resulta útil para desarrollar diversas funciones, como el control de la secuencia temporal de las diferentes fases de un movimiento complejo o la modulación de la actividad de los músculos implicados en un movimiento. Y que, además,

contribuye a la activación de las motoneuronas y a la adaptación a largo plazo a cambios permanentes tales como, por ejemplo, variaciones en el peso corporal o circunstancias que comprometan la funcionalidad de uno o más músculos implicados en un movimiento (Rossignol *et al.*, 2006). En los vertebrados, las informaciones aferentes muscular y cutánea convergen en los generadores centrales de patrones de la médula espinal (Hultborn y Nielsen, 2007). Ambas informaciones, sin embargo, ascienden a través de vías paralelas hasta la corteza somatosensorial primaria, donde la convergencia de las dos submodalidades, aunque frecuente, es mayoritariamente subliminal (Zarzecki y Wiggan, 1982; Kang *et al.*, 1985). Pero las entradas propioceptivas y cutáneas pueden alcanzar el umbral si ambas señales llegan dentro de una estrecha ventana temporal que permita la sumación de sus efectos. De hecho, se ha demostrado que la información aferente fusar y cutánea se potencian entre sí en los humanos, ya que la agudeza propioceptiva disminuye al eliminar la información cutánea aferente generada por el movimiento (Provins, 1958); y la sensación motora generada por el estiramiento de la piel que recubre las articulaciones (Edin y Johansson, 1995; Collins y Prochazka, 1996) aumenta cuando se aplican simultáneamente estiramiento muscular y vibración (Collins *et al.*, 2005).

5.4.- Colateralización de las neuronas de proyección del mvCN

Las neuronas de proyección del mvCN envían colaterales axónicas ipsilaterales hacia el NRGc y la MLR (Fig. 29). Este hallazgo fue inesperado, ya que no existen referencias anatómicas que lo sustenten, aunque Cesa-Bianchi y Sotgiu (1969) observaron que algunas neuronas CL seguían fielmente estimulaciones reticulares a alta frecuencia con latencias de 1 – 2 ms. Los datos del presente trabajo no son, sin embargo, suficientes para aseverar si las colaterales lemniscales terminan o pasan a través de las estructuras estimuladas. No obstante, en el caso de que alguna de las proyecciones que se dirigen al NRGc hiciese sinapsis en las neuronas reticulares, estaríamos ante una vía que haría posible un reflejo espino-retículo-espinal propioceptivo que permitiría un ajuste motor rápido en respuesta a la información proveniente de los receptores fusales. De este modo, la actividad de la musculatura que alberga los receptores podría estar modulada, indirectamente, a través de las colaterales que las neuronas del mvCN envían a la MLR. Esta estructura proyecta, a su vez, hacia las neuronas reticuloespinales, iniciando así una vía descendente bilateral que hace sinapsis con las interneuronas espinales que,

finalmente, sinaptan con las motoneuronas (Noga *et al.*, 2003). Otra posibilidad sería que las colaterales lemniscales terminasen en diferentes grupos neuronales dentro de la formación reticular y/o en estructuras más rostrales implicadas en la integración sensoriomotora (Haring y Rowinski, 1982; Björkeland y Boivie, 1984; Haring *et al.*, 1984; Li y Mizuno, 1997; Wree *et al.*, 2005). Las neuronas retículoespinales de la formación reticular se agrupan siguiendo una cierta ordenación somatotópica, relacionada con el nivel de la médula espinal en el que terminan sus axones y la división del tracto retículoespinal por la que descienden (Canedo, 1997). Por consiguiente, las neuronas del mvCN podrían modular la activación de diferentes poblaciones de motoneuronas, y en última instancia músculos y articulaciones, dependiendo del grupo de neuronas retículoespinales al que llegasen las colaterales de sus axones lemniscales.

Aunque las dianas concretas de las colaterales lemniscales no han sido identificadas, esas fibras de proyección hacia estructuras ipsilaterales constituyen una vía para la distribución bilateral de la información propioceptiva ascendente; lo que puede ser importante para la rápida adecuación de los patrones del movimiento de la pata delantera y para los ajustes posturales asociados que implican la intervención de la musculatura de ambos lados del cuerpo.

5.5.- El efecto inhibitorio del GABA y de la glicina modula la actividad de las neuronas del mvCN de manera que responden al movimiento de una única articulación

La supresión de la actividad de las neuronas del mvCN por el GABA y la Gly resultó más efectiva cuando ambos neurotransmisores se aplicaron simultáneamente que cuando se aplicaron por separado (Figs. 41 y 42). Este hallazgo sugiere que la eficacia de la inhibición aumenta cuando los dos sistemas inhibitorios actúan conjuntamente sobre la misma célula. La inhibición de las neuronas del mvCN, inducida por la estimulación en el rvCN, se produjo, únicamente, cuando los lugares de estimulación del rvCN presentaron campos receptores localizados en articulaciones diferentes a las que activaron a las células registradas simultáneamente en el mvCN (Figs. 36B y 39). Por el contrario, el efecto siempre fue excitatorio cuando ambas células respondieron al movimiento de la misma articulación (Fig. 35). Esto sugiere que existen mecanismos de inhibición espacial implicados en el procesamiento de la información transmitida por las neuronas propioceptivas cuneolemniscales, que

serían los responsables de que las células del mvCN respondan al movimiento de una única articulación.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos es muy probable que el GABA y la Gly actúen sobre receptores distintos presentes en la misma neurona, ya que la Bicu y la Stry eliminaron, respectivamente, su efecto inhibitorio (Figs. 43, 44, 46). Con los datos de los que disponemos, no podemos asegurar que los dos neurotransmisores se liberen en la misma terminal presináptica o en terminales distintas, pero la cotransmisión es un fenómeno habitual en el sistema nervioso central (Burnstock, 2004), el GABA y la Gly colocalizan en los DCN de la rata (Popratiloff *et al.*, 1996) y se ha observado su coliberación funcional en otras regiones del tronco del encéfalo (O'Brien y Berger, 1999; Russier *et al.*, 2002; Awatramani *et al.*, 2005; Lu *et al.*, 2008). En cualquier caso, la coliberación y/o la acción simultánea sobre los receptores postsinápticos incrementarían la eficacia de la transmisión sináptica, lo que explicaría el aumento en la eficacia del efecto inhibitorio descrito.

5.6.- El GABA y la glicina inhiben tónicamente las neuronas del mvCN

La Bicu y la Stry aumentaron la excitabilidad celular modulando la actividad espontánea (Fig. 49) y las respuestas inducidas por la estimulación eléctrica (Fig. 50). Esto indica que el GABA y la Gly ejercen una inhibición tónica sobre las neuronas propioceptivas del mvCN a través de receptores GABA_A y GlyRs sensibles a la Stry, respectivamente. La inhibición tónica se ha descrito en diferentes estructuras, entre otras, la médula espinal, el tálamo, el hipocampo, la corteza somatosensorial (Farrant y Nusser, 2005) o en el subnúcleo reticular dorsal (Soto *et al.*, 2008), una estructura situada en la parte ventral del bulbo caudal. Este mecanismo de inhibición persistente implica la activación de receptores extrasinápticos. Estos receptores pueden estar situados lejos de las sinapsis en las que se libera el neurotransmisor, distribuidos por el soma, las dendritas y los axones. Además, dicho mecanismo precisa de una baja pero permanente concentración de neurotransmisor en el espacio extracelular para que el efecto inhibitorio persista (Belelli *et al.*, 2009). La activación de los receptores extrasinápticos provoca el incremento permanente de la conductancia de entrada y, por ende, aumenta la hiperpolarización de la membrana celular. Esto conlleva la reducción de la duración y la amplitud de los potenciales excitatorios postsinápticos generados por las sinapsis excitatorias. El resultado final es la reducción de la duración de la ventana espacial y temporal en la que se puede producir la integración de la señal, y en última

instancia, la disminución de la probabilidad de generar un potencial de acción (Farrant y Nusser, 2005). Por lo tanto, la inhibición tónica ejercida por el GABA y la Gly supondría un mecanismo general de filtrado de la información débil y menos específica, lo que primaría la transmisión de la información más relevante en cada momento y circunstancia.

5.7.- Distribución de los receptores de glicina en el núcleo *cuneatus* principal

El estudio inmunohistoquímico reveló que los GlyRs sensibles a la Stry se distribuyen homogéneamente por todo el CN (Fig. 51), pero parecen desempeñar funciones diferentes dependiendo del grupo de células que los expresan. En la zona de los agregados desinhiben la actividad de las neuronas de proyección que reciben aferencias cutáneas, inhibiendo la acción de las interneuronas GABAérgicas (Aguilar *et al.*, 2003). Por el contrario, el presente estudio ha desvelado que en el mvCN desempeñan un papel puramente inhibitorio. Los GlyRs presentes en las células de la base del mCN, silencian directamente a las neuronas propioceptivas CL (Figs. 42E, 45) y a las nCL (Figs. 40B, 41, 46) tras ser activados por la Gly liberada en las terminales de las interneuronas glicinérgicas presentes en el CN (gato: Kelly y Renaud, 1973b; rata: Roberts, 1974; Pourcho *et al.*, 1992; Popratiloff *et al.*, 1996; Lue *et al.*, 1997). El efecto inhibitorio directo de la Gly en el procesamiento de la información propioceptiva aferente constituye una característica diferencial de las neuronas cuneolemniscales propioceptivas dentro del mCN.

5.8.- El tamaño de las neuronas del mvCN marcadas para el receptor de la glicina es inferior al de las células del mdCN que también expresan el receptor

Las neuronas del mvCN marcadas para el GlyR presentaron un tamaño inferior al de las células marcadas en el mdCN (Fig. 52) y morfología multipolar, triangular y fusiforme (Fig. 51). Artículos anteriores han demostrado que las neuronas polimórficas (multipolares, triangulares, fusiformes) de la base del CN presentan un tamaño inferior al de las neuronas del mdCN (Cheema *et al.*, 1983; Heino y Westman, 1991); y que hasta el mvCN llegan, fundamentalmente, aferencias de naturaleza propioceptiva tanto primarias (Rosén, 1969a,b; Millar y Basbaum, 1975; Dykes *et al.*, 1982; Nyberg y Blomqvist, 1982, 1984; Jasmin *et al.*, 1985; Fyffe *et al.*, 1986a; Surmeier y

Towe, 1987) como corticales (Kuypers y Tuerk, 1964; Weisberg y Rustioni, 1979). Lo anterior, unido a que en el presente trabajo y en otros (Rosén, 1969a,b; Rosén y Sjölund, 1973a; Millar y Basbaum, 1975) las neuronas activadas por aferencias musculares supusieron la práctica totalidad de las células registradas en el mvCN, nos permite inferir que las neuronas polimórficas del mvCN marcadas para el GlyR son células propioceptivas, cuya actividad está modulada por el efecto inhibitorio de la Gly (Figs. 40 – 43 y 45 – 50) a través de los GlyRs sensibles a la Stry.

El hecho de que las neuronas propioceptivas del mvCN sean más pequeñas que las cutáneas del mdCN, podría suponer el fundamento anatómico de la diferencia observada en la velocidad de conducción a través del ML entre las fibras propioceptivas y las cutáneas (Fig. 31). De este modo, si el diámetro del axón estuviese en concordancia con el tamaño del soma, los axones de las neuronas del mdCN presentarían un calibre mayor, lo que explicaría su mayor velocidad de conducción.

5.9.- Las neuronas propioceptivas del mvCN y del rvCN se relacionan funcionalmente

La mayoría de las respuestas excitatorias de las células cuneolemniscales del mvCN inducidas por la estimulación del rvCN (38/47; 80.8%) resultaron ser monosinápticas, y 11 de ellas (28.9%) respondieron fielmente a estímulos de hasta 200 Hz (Figs. 34A y 35A), lo que denota una gran seguridad en la transmisión sináptica. El efecto ejercido por la estimulación del rvCN sobre las neuronas CL del mvCN presentó una gran especificidad espacial. Prueba de ello fue que un aumento de la intensidad del estímulo eléctrico aplicado o un cambio mínimo en la posición del electrodo de estimulación, provocaron modificaciones importantes en las respuestas de las células CL (Figs. 33, 37, 38). Estos datos están respaldados por los resultados de trabajos anteriores en los que se describe la alta especificidad espacial de las neuronas propioceptivas del CN (Rosén, 1969b,c; Rosén y Sjölund, 1973a; Hummelsheim y Wiesendanger, 1985; Mackie *et al.*, 1998). Pero además, las células CL cuyo campo receptor se localizó en un músculo determinado, se activaron al estimular el rvCN, tanto en lugares que recibían aferencias excitatorias del mismo músculo como en otros lugares activados por músculos agonistas y/o antagonistas. Esto implica que: 1) las mismas aferencias propioceptivas primarias llegan a las neuronas del rvCN y del mvCN, probablemente a través de colaterales de las aferencias primarias y/o por aferencias que inervan

diferentes propioceptores del mismo músculo; y 2) que la red rvCN-mvCN estaría relacionada funcionalmente con el movimiento de las articulaciones más que con la actividad de los músculos individuales que las mueven. El procesamiento conjunto de la información que proviene de los músculos que activan una articulación sería un modo económico de modular la actividad de las neuronas de proyección del mvCN. Las neuronas del mvCN y del rvCN que reciben aferencias desde los husos estirados durante el movimiento de una articulación aumentan su actividad, mientras que las neuronas que reciben aferencias de los husos de los músculos antagonistas estarían desfacilitadas. A su vez, las fibras primarias procedentes de los husos musculares activados también aumentan la actividad de las interneuronas inhibitorias del rvCN y/o del mvCN con las que sinaptan. Esto induciría “inhibición lateral” de las neuronas CL que reciben información propioceptiva desde otras articulaciones. En consecuencia, la información transmitida hacia niveles superiores señalaría la actividad de una articulación y no la de los músculos de forma individual.

El procedimiento de estimulación pasivo empleado en animales paralizados (deseferentados), generó una actividad comparable a la que se produce durante la ejecución de un movimiento activo. Así, las respuestas de las neuronas registradas presentaron propiedades dinámicas y estáticas muy similares a las de las fibras fusales aferentes *Ia* que las activaron: actividad tónica y respuestas fásicas que proporcionan información acerca del ángulo de la articulación y de la fase dinámica del estiramiento.

La disminución de la actividad lemniscal observada antes de que se produzca un movimiento activo se puede atribuir a la actividad generada a nivel central, probablemente de origen cortical (Soso y Fetz, 1980). Sin embargo, la disminución de la actividad que se produce durante la ejecución del movimiento depende, probablemente, de la información propioceptiva periférica (Ghez y Lenzi, 1971; Ghez y Pisa, 1972; Coulter, 1974; Chapman *et al.*, 1988) y se potenciaría a través del rvCN y de la corteza cerebral. Los datos apuntan a que el mvCN regula la transmisión de la información propioceptiva mediante un mecanismo que incluye la potenciación de la información procedente de una articulación activa y el filtraje de la información proveniente de otras articulaciones. Este modelo (Fig. 53) implica que el CN no hace distinción entre la información que proviene de los músculos agonistas o antagonistas de una articulación, sino que la procesa como un todo, discriminando entre articulaciones y no entre los diferentes músculos que las mueven. Siguiendo este mismo modelo, las neuronas del CN activadas por aferencias

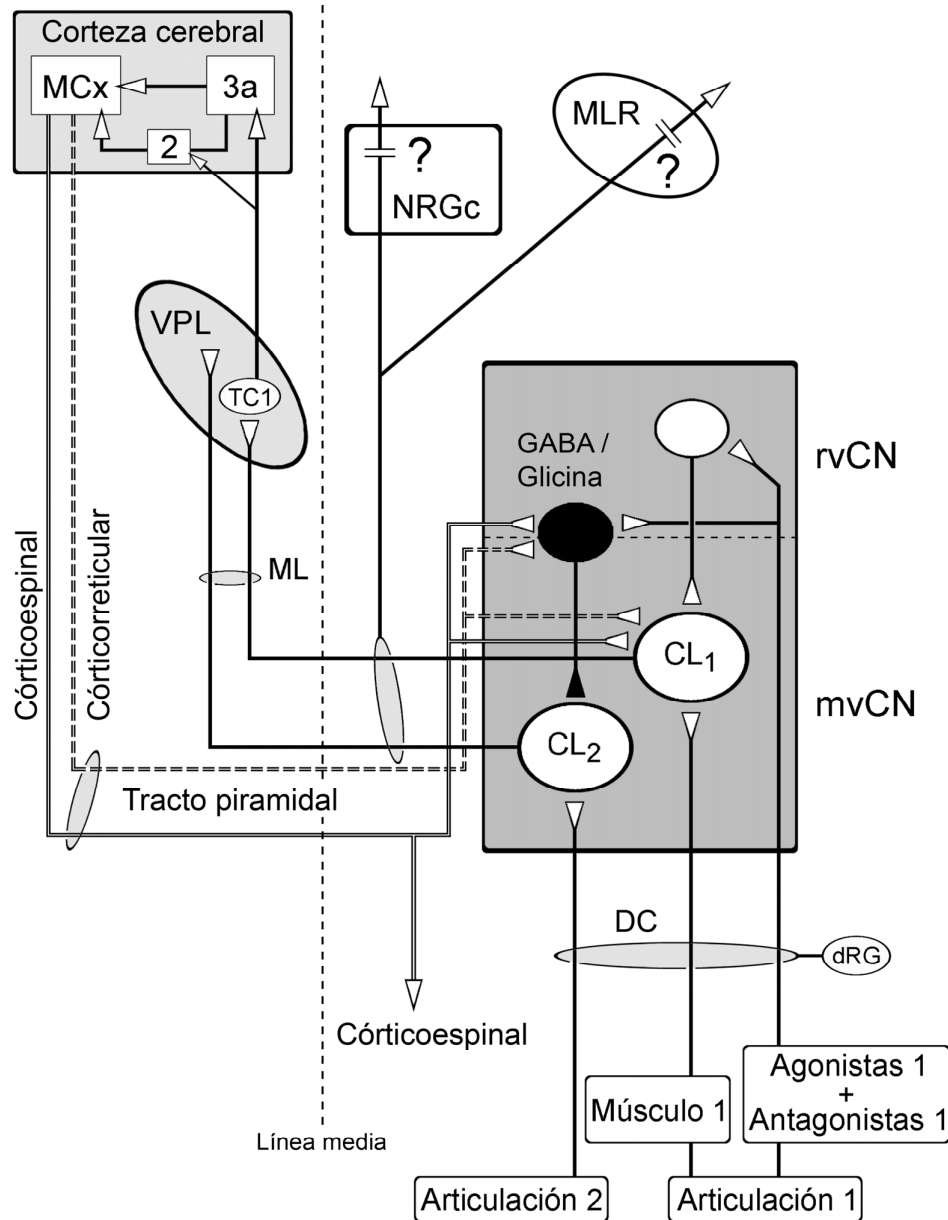


Figura 53. Modelo propuesto de los circuitos implicados en el procesamiento de la información propioceptiva ascendente. La actividad de una población de células cuneolemniscales propioceptivas (CL_1) que reciben entradas musculares desde una articulación en movimiento, se potencia a través de interneuronas excitatorias del rCN, activadas por entradas propioceptivas procedentes de la misma articulación. Estas señales procedentes de la misma articulación inhiben a otras células cuneolemniscales (CL_2), que reciben entradas propioceptivas desde otras articulaciones, por medio de interneuronas GABAérgicas y/o glicinérgicas situadas en el rCN y/o en el mCN. Algunos de los axones cuneolemniscales propioceptivos que proyectan al núcleo ventro-postero-lateral (VPL) del tálamo contralateral, emiten colaterales que llegan hasta o pasan a través del NRGc y la MLR ipsilaterales. Las fibras tálamo-corticales que parten del VPL, alcanzan el área 3a y algunas también el área 2 de la corteza, las cuales, a su vez, envían la información a la corteza motora (MCx); desde donde parten fibras descendentes hacia el mvCN y el rvCN a través del tracto piramidal. Esta retroalimentación cortical puede llegar al CN directamente, a través de los axones corticorreticulares, o mediante colaterales de las fibras corticoespinales. Las aferencias corticales potenciarían la información ascendente generada en una articulación determinada, mientras que inhibirían las salidas ascendentes de otras articulaciones.

propioceptivas procedentes de diferentes articulaciones se han de activar secuencialmente y no de forma simultánea, lo que también reduciría las señales ambiguas procedentes de músculos que participan en el movimiento de más de una articulación (Sturnieks *et al.*, 2007). La activación secuencial de las neuronas propioceptivas del CN concuerda con los resultados obtenidos en primates por Murphy *et al.* (1982 y 1985). Según estos investigadores, las articulaciones de la extremidad anterior se activan secuencialmente durante la ejecución de movimientos voluntarios complejos y este patrón de activación está marcado por la descarga secuencial de grupos específicos de neuronas de la MI. Por lo tanto, la red rvCN-mvCN podría desempeñar un papel funcional en la coordinación de las articulaciones, agrupando la información que llega desde cada una de ellas en bloques funcionales que se utilizarían para determinar las características de los movimientos de la pata delantera. Esta información se utilizaría para actualizar la representación interna de los miembros anteriores y reclutar redes motoras específicas en la corteza cerebral, asegurando precisión en el marco espacio-temporal, tal y como se ha descrito en los movimientos de alcance en primates (Murphy *et al.*, 1985).

6.- CONCLUSIONES

1. La diferencia de velocidad de conducción entre las fibras cuneolomniscasles propioceptivas y cutáneas podría suponer el mecanismo que hace posible el procesamiento simultáneo de ambas informaciones en el tálamo y la corteza cerebral.

2. La estimulación del ML contralateral provoca la inhibición de las neuronas propioceptivas del mvCN, probablemente a través de colaterales lemniscasles recurrentes.

3. Las neuronas cuneolomniscasles del mvCN envían colaterales que terminan o pasan a través del NRGc y de la MLR ipsilaterales, permitiendo la distribución bilateral de la información propioceptiva aferente.

4. Dependiendo del campo receptor que las active, las neuronas propioceptivas del rvCN ejercen un efecto diferente sobre las células del mvCN: excitatorio cuando ambas células se activan por el movimiento de la misma articulación; inhibitorio cuando se activan por el movimiento de articulaciones distintas.

5. El efecto inhibitorio del GABA y de la glicina modula la actividad de las neuronas del mvCN de manera que responden al movimiento de una única articulación.

6. El GABA y la glicina suprimen tanto la actividad espontánea como la inducida por la estimulación eléctrica y mecánica de las neuronas propioceptivas del mvCN y su efecto inhibitorio es más eficaz cuando ambos neurotransmisores actúan simultáneamente.

7. El GABA y/o la glicina inhiben tónicamente las neuronas propioceptivas del mvCN a través de receptores GABA_A y de receptores de glicina sensibles a la estircnina.

8. Los receptores de glicina se distribuyen homogéneamente por todo el CN principal aunque desempeñan funciones diferentes dependiendo de la región del núcleo en la que se encuentran: desinhibición en la región de los agregados e inhibición sobre las células propioceptivas.

7.- BIBLIOGRAFÍA

- Abrahams V.C., Richmond F.J., Keane J. (1984). *Projections from C2 and C3 nerves supplying muscles and skin of the cat neck: a study using transganglionic transport of horseradish peroxidase*. J. Comp. Neurol. 230(1): 142-54.
- Aguilar J., Rivadulla C., Soto C., Canedo A. (2003). *New corticocuneate cellular mechanisms underlying the modulation of cutaneous ascending transmission in anesthetized cats*. J. Neurophysiol. 89(6): 3328-39.
- Aguilar J., Soto C., Rivadulla C., Canedo A. (2002). *The lemniscal-cuneate recurrent excitation is suppressed by strychnine and enhanced by GABAA antagonists in the anaesthetized cat*. Eur. J. Neurosci. 16(9): 1697-704.
- Andersen P., Eccles J.C., Schmidt R.F., Yokota T. (1964a). *Depolarization of presynaptic fibres in the cuneate nucleus*. J. Neurophysiol. 27: 92-106.
- Andersen P., Eccles J.C., Schmidt R.F., Yokota T. (1964b). *Identification of relay cells and interneurons in the cuneate nucleus*. J. Neurophysiol. 27: 1080-95.
- Andersen P., Eccles J.C., Oshima T., Schmidt R.F. (1964c). *Mechanisms of synaptic transmission in the cuneate nucleus*. J. Neurophysiol. 27: 1096-116.
- Andersen P., Etholm B., Gordon G. (1970). *Presynaptic and post-synaptic inhibition elicited in the cat's dorsal column nuclei by mechanical stimulation of skin*. J. Physiol. 210(2): 433-55.
- Andersson S.A., Landgren S., Wolsk D. (1966). *The thalamic relay and cortical projection of group I muscle afferents from the forelimb of the cat*. J. Physiol. 183(3): 576-91.
- Andrew B.L. (1954). *The sensory innervation of the medial ligament of the knee joint*. J. Physiol. 123(2): 241-50.
- Armstrong D.M. (1986). *Supraspinal contributions to the initiation and control of locomotion in the cat*. Prog. Neurobiol. 26(4): 273-361.
- Armstrong D.M. (1988). *The supraspinal control of mammalian locomotion*. J. Physiol. 405: 1-37.
- Awatramani G.B., Turecek R., Trussell L.O. (2005). *Staggered development of GABAergic and glycinergic transmission in the MNTB*. J. Neurophysiol. 93(2): 819-28.
- Baker S.N. (2011). *The primate reticulospinal tract, hand function and functional recovery*. J. Physiol. 589(Pt 23): 5603-12.
- Banna N.R. y Jabbur S.J. (1989). *Neurochemical transmission in the dorsal column nuclei*. Somatosens. Mot. Res. 6(3): 237-51.
- Barbaresi P., Spreafico R., Frassoni C., Rustioni A. (1986). *GABAergic neurons are present in the dorsal column nuclei but not in the ventroposterior complex of rats*. Brain Res. 382(2): 305-26.
- Becker C.M. (1992). *Convulsants acting at the inhibitory glycine receptor*. Handbook of experimental pharmacology. Vol 102 (Herken H, Hucho F, eds.), pp. 539-575. Berlin: Springer.
- Belelli D., Harrison N.L., Maguire J., Macdonald R.L., Walker M.C., Cope D.W. (2009). *Extrasynaptic GABAA receptors: form, pharmacology, and function*. J. Neurosci. 29(41): 12757-63.
- Berkley K.J., Blomqvist A., Pelt A., Flink R. (1980). *Differences in the collateralization of neuronal projections from the dorsal column nuclei and lateral cervical nucleus to the thalamus and tectum in the cat: an anatomical study using two different double-labelling techniques*. Brain Res. 202(2): 273-90.
- Berkley K.J., Budell R.J., Blomqvist A., Bull M. (1986). *Output systems of the dorsal column nuclei in the cat*. Brain Res. 396(3): 199-225.
- Berman A.L. (1968). *The brain stem of the cat; A cytoarchitectonic atlas with stereotaxic coordinates*. University of Wisconsin Press, Madison.

- Björkeland M. y Boivie J. (1984). *An anatomical study of the projections from the dorsal column nuclei to the midbrain in cat*. Anat. Embryol. (Berl). 170(1): 29-43.
- Blomqvist A., Flink R., Bowsler D., Griph S., Westman J. (1978). *Tectal and thalamic projections of dorsal column and lateral cervical nuclei: a quantitative study in the cat*. Brain Res. 141(2): 335-41.
- Bormann J., Hamill O.P., Sakmann B. (1987). *Mechanism of anion permeation through channels gated by glycine and gamma-aminobutyric acid in mouse cultured spinal neurones*. Physiol. 385: 243-86.
- Boyd I.A. (1954). *The histological structure of the receptors in the knee-joint of the cat correlated with their physiological response*. J. Physiol. 124(3): 476-88.
- Brech A.J., Gordon G., Powell T.P. (1977). *Corticofugal cells responding antidromically to stimulation of the cuneate or gracile nuclei of the cat*. Brain Res. 128(1): 29-52.
- Brinling J.C. y Smith C.M. (1960). *A characterization of the stimulation of mammalian muscle spindles by succinylcholine*. J. Pharmacol. Exp. Ther. 129: 56-60.
- Brodal P. (2010). *Peripheral parts of the somatosensory system*. In: The central nervous system. Oxford University Press. New York. Pt3, Chapter 13; pp. 163-189.
- Brown M.C., Engberg I., Matthews P.B. (1967). *The relative sensitivity to vibration of muscle receptors of the cat*. J. Physiol. 192(3): 773-800.
- Burgess P.R. y Clark F.J. (1969). *Characteristics of knee joint receptors in the cat*. J. Physiol. 203(2): 317-35.
- Burke D., Gandevia S.C., Macefield G. (1988). *Responses to passive movement of receptors in joint, skin and muscle of the human hand*. J. Physiol. 402: 347-61.
- Burnstock G. (2004). *Cotransmission*. Curr. Opin. Pharmacol. 4(1): 47-52.
- Canedo A. (1997). *Primary motor cortex influences on the descending and ascending systems*. Progress in Neurobiology, vol. 51, pp. 287 to 335.
- Canedo A. y Aguilar J. (2000). *Spatial and cortical influences exerted on cuneothalamic and thalamocortical neurons of the cat*. Eur. J. Neurosci. 12(7): 2515-33.
- Canedo A., Mariño J., Aguilar J. (2000). *Lemniscal recurrent and transcortical influences on cuneate neurons*. Neuroscience. 97(2): 317-34.
- Canedo A., Martinez L., Mariño J. (1998). *Tonic and bursting activity in the cuneate nucleus of the chloralose-anesthetized cat*. Neuroscience. 84(2): 603-17.
- Casabona A., Valle M.S., Bosco G., Perciavalle V. (2008). *Comparison of neuronal activities of external cuneate nucleus, spinocerebellar cortex and interpositus nucleus during passive movements of the rat's forelimb*. Neuroscience. 157(1): 271-9.
- Cesa-Bianchi M.G. y Sotgiu M.L. (1969). *Control by brain stem reticular formation of sensory transmission in Burdach nucleus. Analysis of single units*. Brain Res. 13(1): 129-39.
- Chapman C.E., Jiang W., Lamarre Y. (1988). *Modulation of lemniscal input during conditioned arm movements in the monkey*. Exp. Brain Res. 72(2): 316-34.
- Cheema S., Fyffe R., Light A., Rustioni A. (1984). *Arborizations of single corticofugal axons in the feline cuneate nucleus stained by iontophoretic injection of horseradish peroxidase*. Brain Res. 290(1): 158-64.
- Cheema S., Rustioni A., Whitsel B.L. (1985). *Sensorimotor cortical projections to the primate cuneate nucleus*. J. Comp. Neurol. 240(2): 196-211.
- Cheema S., Whitsel B.L., Rustioni A. (1983). *The corticocuneate pathway in the cat: relations among terminal distribution patterns, cytoarchitecture, and single neuron functional properties*. Somatosens. Res. 1(2): 169-205.
- Clark F.J. y Burgess P.R. (1975). *Slowly adapting receptors in cat knee joint: can they signal joint angle?* J. Neurophysiol. 38(6): 1448-63.
- Coleman G.T., Zhang H.Q., Rowe M.J. (2003). *Transmission security for single kinesthetic afferent fibers of joint origin and their target cuneate neurons in the cat*. J. Neurosci. 23(7): 2980-92.

- Collins D.F. y Prochazka A. (1996). *Movement illusions evoked by ensemble cutaneous input from the dorsum of the human hand*. J. Physiol. 496 (3): 857-71.
- Collins D.F., Refshauge K.M., Todd G., Gandevia S.C. (2005). *Cutaneous receptors contribute to kinesthesia at the index finger, elbow, and knee*. J. Neurophysiol. 94(3): 1699-706.
- Cooke J.D., Larson B., Oscarsson O., Sjölund B. (1971a). *Origin and termination of cuneocerebellar tract*. Exp. Brain Res. 13(4): 339-58.
- Cooke J.D., Larson B., Oscarsson O., Sjölund B. (1971b). *Organization of afferent connections to cuneocerebellar tract*. Exp. Brain Res. 13(4): 359-77.
- Coulter J.D. (1974). *Sensory transmission through lemniscal pathway during voluntary movement in the cat*. J. Neurophysiol. 37(5): 831-45.
- Curtis D.R., Duggan A.W., Felix D., Johnston G.A. (1971). *Bicuculline, an antagonist of GABA and synaptic inhibition in the spinal cord of the cat*. Brain Res. 32(1): 69-96.
- Darstein M., Landwehrmeyer G.B., Kling C., Becker C.M., Feuerstein T.J. (2000). *Strychnine-sensitive glycine receptors in rat caudatoputamen are expressed by cholinergic interneurons*. Neuroscience. 96(1): 33-9.
- Davidson N. y Smith C.A. (1972). *A recurrent collateral pathway for presynaptic inhibition in the rat cuneate nucleus*. Brain Res. 44(1): 63-71.
- Davidson N. y Southwick C.A. (1971). *Amino acids and presynaptic inhibition in the rat cuneate nucleus*. J. Physiol. 219(3): 689-708.
- Davies J. y Watkins J.C. (1973a). *Antagonism of synaptic and amino acid induced excitation in the cuneate nucleus of the cat by HA-966*. Neuropharmacology. 12(7): 637-40.
- Davies J. y Watkins J.C. (1973b). *Microelectroretic studies on the depressant action of HA-966 on chemically and synaptically excited neurones in the cat cerebral cortex and cuneate nucleus*. Brain Res. 59: 311-22.
- De Biasi S. y Rustioni A. (1990). *Ultrastructural immunocytochemical localization of excitatory amino acids in the somatosensory system*. J. Histochem. Cytochem. 38(12): 1745-54.
- Deuchars S.A., Trippenbach T., Spyer K.M. (2000). *Dorsal column nuclei neurons recorded in a brain stem-spinal cord preparation: characteristics and their responses to dorsal root stimulation*. J. Neurophysiol. 84(3): 1361-8.
- Dostrovsky J.O., Millar J., Wall P.D. (1976). *The immediate shift of afferent drive to dorsal column nucleus cells following deafferentation: a comparison of acute and chronic deafferentation in gracile nucleus and spinal cord*. Exp. Neurol. 52(3): 480-95.
- Durbaba R., Taylor A., Ellaway P.H., Rawlinson S. (2006). *Classification of longissimus lumborum muscle spindle afferents in the anaesthetized cat*. J. Physiol. 571(2): 489-98.
- Dykes R.W., Rasmusson D.D., Sretavan D., Rehman N.B. (1982). *Submodality segregation and receptive-field sequences in cuneate, gracile, and external cuneate nuclei of the cat*. J. Neurophysiol. 47(3): 389-416.
- Edin B. (2001). *Cutaneous afferents provide information about knee joint movements in humans*. J. Physiol. 531(1): 289-97.
- Edin B.B. y Johansson N. (1995). *Skin strain patterns provide kinaesthetic information to the human central nervous system*. J. Physiol. 487 (1): 243-51.
- Edin B.B. y Vallbo A.B. (1990). *Dynamic response of human muscle spindle afferents to stretch*. J. Neurophysiol. 63(6): 1297-306.
- Edström L. y Kugelberg E. (1968). *Histochemical composition, distribution of fibres and fatigability of single motor units. Anterior tibial muscle of the rat*. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 31(5): 424-33.
- Ellis L.C. y Rustioni A. (1981). *A correlative HRP, Golgi, and EM study of the intrinsic organization of the feline dorsal column nuclei*. J. Comp. Neurol. 197(2): 341-67.

- Farrant M. y Nusser Z. (2005). *Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABA(A) receptors*. *Nat. Rev. Neurosci.* 6(3): 215-29.
- Freeman M.A. y Wyke B. (1967). *The innervation of the knee joint. An anatomical and histological study in the cat*. *J. Anat.* 101(3): 505-32.
- Fukami Y. y Wilkinson R.S. (1977). *Responses of isolated Golgi tendon organs of the cat*. *J. Physiol.* 265(3): 673-89.
- Fukushima K., Peterson B.W., Wilson V.J. (1979). *Vestibulospinal, reticulospinal and interstitiospinal pathways in the cat*. *Prog. Brain Res.* 50: 121-36.
- Fuller J.H., Schlag J.D. (1976). *Determination of antidromic excitation by the collision test: problems of interpretation*. *Brain Res.* 112(2): 283-98.
- Fyffe R.E., Cheema S.S., Rustioni A. (1986a). *Intracellular staining study of the feline cuneate nucleus. I. Terminal patterns of primary afferent fibers*. *J. Neurophysiol.* 56(5): 1268-83.
- Fyffe R.E., Cheema S.S., Light A.R., Rustioni A. (1986b). *Intracellular staining study of the feline cuneate nucleus. II. Thalamic projecting neurons*. *J. Neurophysiol.* 56(5): 1284-96.
- Galindo A. (1969). *GABA-picrotoxin interaction in the mammalian central nervous system*. *Brain Res.* 14(3): 763-7.
- Galindo A., Krnjević K., Schwartz S. (1967). *Micro-iontophoretic studies on neurones in the cuneate nucleus*. *J. Physiol.* 192(2): 359-77.
- Gandevia S.C. y McCloskey D.I. (1976). *Joint sense, muscle sense, and their combination as position sense, measured at the distal interphalangeal joint of the middle finger*. *J. Physiol.* 260(2): 387-407.
- Gandevia S.C., Refshauge K.M., Collins D.F. (2002). *Proprioception: peripheral inputs and perceptual interactions*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 508: 61-8.
- Garcia-Rill E. y Skinner R.D. (1987). *The mesencephalic locomotor region. II. Projections to reticulospinal neurons*. *Brain Res.* 411(1): 13-20.
- Garcia-Rill E., Skinner R.D., Gilmore S.A., Owings R. (1983). *Connections of the mesencephalic locomotor region (MLR) II. Afferents and efferents*. *Brain Res. Bull.* 10(1): 63-71.
- Ghez C. y Lenzi G.L. (1971). *Modulation of sensory transmission in cat lemniscal system during voluntary movement*. *Pflugers Arch.* 323(3): 273-8.
- Ghez C. y Pisa M. (1972). *Inhibition of afferent transmission in cuneate nucleus during voluntary movement in the cat*. *Brain Res.* 40(1): 145-55.
- Gordon G. y Paine C.H. (1960). *Functional organization in nucleus gracilis of the cat*. *J. Physiol.* 153: 331-49.
- Grigg P. (1975). *Mechanical factors influencing response of joint afferent neurons from cat knee*. *J. Neurophysiol.* 38(6): 1473-84.
- Grill S.E. y Hallett M. (1995). *Velocity sensitivity of human muscle spindle afferents and slowly adapting type II cutaneous mechanoreceptors*. *J. Physiol.* 489 (2): 593-602.
- Grillner S., Hongo T., Lund S. (1971). *Convergent effects on alpha motoneurons from the vestibulospinal tract and a pathway descending in the medial longitudinal fasciculus*. *Exp. Brain Res*12(5): 457-79.
- Groenewegen H.J., Boesten A.J., Voogd J. (1975). *The dorsal column nuclear projections to the nucleus ventralis posterior lateralis thalami and the inferior olive in the cat: an autoradiographic study*. *J. Comp. Neurol.* 162(4): 505-17.
- Haines D.E. (2009). *Sistema somatosensorial I: discriminación táctil y sensibilidad postural*. En: *Principios de Neurociencia*. Elsevier España.Barcelona. 2ª ed., cap. 17, pp. 255 - 272
- Hand P.J. y Van Winkle T. (1977). *The efferent connections of the feline nucleus cuneatus*. *J. Comp. Neurol.* 171(1): 83-109.

- Haring J.H. y Rowinski M.J. (1982). *A horseradish peroxidase study of projections from the main and external cuneate nuclei to the cerebellum of the North American raccoon*. J. Comp. Neurol. 211(4): 363-76.
- Haring J.H., Rowinski M.J., Pubols B.H. (1984). *Electrophysiology of raccoon cuneocerebellar neurons*. Somatosens Res. 1(3): 247-64.
- Harvey R.J. y Matthews P.B. (1961). *The response of de-efferented muscle spindle endings in the cat's soleus to slow extension of the muscle*. J. Physiol. 157: 37-92.
- Heino R. y Westman J. (1991). *Quantitative analysis of the feline dorsal column nuclei and their GABAergic and non-GABAergic neurons*. Anat. Embryol. (Berl). 184(3): 181-93.
- Horcholle-Bossavit G., Jami L., Petit J., Vejsada R., Zytnicki D. (1990). *Ensemble discharge from Golgi tendon organs of cat peroneus tertius muscle*. J. Neurophysiol. 64(3): 813-21.
- Houk J. y Henneman E. (1967). *Responses of Golgi tendon organs to active contractions of the soleus muscle of the cat*. J. Neurophysiol. 30(3): 466-81.
- Hultborn H. y Nielsen J.B. (2007). *Spinal control of locomotion--from cat to man*. Acta Physiol. (Oxf). 189(2): 111-21.
- Hummelsheim H. y Wiesendanger M. (1985). *Neuronal responses of medullary relay cells to controlled stretches of forearm muscles in the monkey*. Neuroscience. 16(4): 989-96.
- Ishizuka N., Mannen H., Hongo T., Sasaki S. (1979). *Trajectory of group Ia afferent fibers stained with horseradish peroxidase in the lumbosacral spinal cord of the cat: three dimensional reconstructions from serial sections*. J. Comp. Neurol. 186(2): 189-211.
- Ito M., Udo M., Mano N. (1970). *Long inhibitory and excitatory pathways converging onto cat reticular and Deiters' neurons and their relevance to reticulofugal axons*. J. Neurophysiol. 33(2): 210-26.
- Jabbur S.J. y Banna N.R. (1970). *Widespread cutaneous inhibition in dorsal column nuclei*. J. Neurophysiol. 33(5): 616-24.
- Jabbur S.J. y Towe A.L. (1961). *Cortical excitation of neurons in dorsal column nuclei of cat, including an analysis of pathways*. J. Neurophysiol. 24: 499-509.
- Jami L. y Petit J. (1976). *Heterogeneity of motor units activating single Golgi tendon organs in cat leg muscles*. Exp. Brain. Res. 24(5): 485-93.
- Jasmin L. y Courville J. (1987a). *Distribution of external cuneate nucleus afferents to the cerebellum: I. Notes on the projections from the main cuneate and other adjacent nuclei. An experimental study with radioactive tracers in the cat*. J. Comp. Neurol. 261(4): 481-96.
- Jasmin L. y Courville J. (1987b). *Distribution of external cuneate nucleus afferents to the cerebellum: II. Topographical distribution and zonal pattern--an experimental study with radioactive tracers in the cat*. J. Comp. Neurol. 261(4): 497-514.
- Jasmin L., Courville J., Bakker D.A. (1985). *Afferent projections from forelimb muscles to the external and main cuneate nuclei in the cat. A study with transganglionic transport of horseradish peroxidase*. Anat. Embryol. (Berl). 171(3): 275-84.
- Kably B. y Drew T. (1998). *Corticoreticular pathways in the cat. I. Projection patterns and collaterization*. J. Neurophysiol. 80(1): 389-405.
- Kang R., Herman D., MacGillis M., Zarzecki P. (1985). *Convergence of sensory inputs in somatosensory cortex: interactions from separate afferent sources*. Exp. Brain Res. 57(2): 271-8.
- Keller J.H. y Hand P.J. (1970). *Dorsal root projections to nucleus cuneatus of the cat*. Brain Res. 20(1): 1-17.
- Kelly J.S. y Renaud L.P. (1973a). *On the pharmacology of the gamma-aminobutyric acid receptors on the cuneo-thalamic relay cells of the cat*. Br. J. Pharmacol. 48(3): 369-86.

- Kelly J.S. y Renaud L.P. (1973b). *On the pharmacology of the glycine receptors on the cuneo-thalamic relay cells in the cat*. Br. J. Pharmacol. 48(3): 387-95.
- Kelly J.S. y Renaud L.P. (1973c). *On the pharmacology of ascending, descending and recurrent postsynaptic inhibition of the cuneo-thalamic relay cells in the cat*. Br. J. Pharmacol. 48(3): 396-408.
- Kojima N. y Kanazawa I. (1987). *Possible neurotransmitters of the dorsal column afferents: effects of dorsal column transection in the cat*. Neuroscience. 23(1): 263-74.
- Kuypers H.G. y Tuerk J.D. (1964). *The distribution of the cortical fibres within the nuclei cuneatus and gracilis in the cat*. J. Anat. 98: 143-62.
- Lamas J.A., Martinez L., Canedo A. (1994). *Pericruciate fibres to the red nucleus and to the medial bulbar reticular formation*. Neuroscience. 62(1): 115-24.
- Levitt M., Carreras M., Liu C.N., Chambers W.W. (1964). *Pyramidal and extrapyramidal modulation of somatosensory activity in gracile and cuneate nuclei*. Arch. Ital. Biol. 102: 197-229.
- Li H. y Mizuno N. (1997). *Collateral projections from single neurons in the dorsal column nuclei to the inferior colliculus and the ventrobasal thalamus: a retrograde double-labeling study in the rat*. Neurosci Lett. 225(1): 21-4.
- Loeb G.E., Bak M.J., Duysens J. (1977). *Long-term unit recording from somatosensory neurons in the spinal ganglia of the freely walking cat*. Science. 197(4309): 1192-4.
- Lu T., Rubio M.E., Trussell L.O. (2008). *Glycinergic transmission shaped by the corelease of GABA in a mammalian auditory synapse*. Neuron. 57(4): 524-35.
- Lue J.H., Jiang-Shieh Y.F., Shieh J.Y., Wen C.Y. (1996). *The synaptic interrelationships between primary afferent terminals, cuneothalamic relay neurons and GABA-immunoreactive boutons in the rat cuneate nucleus*. Neurosci. Res. 24(4): 363-71.
- Lue J.H., Shieh W.F., Chen S.H., Shieh J.Y., Wen C.Y. (1997). *Morphometric study of glycine-immunoreactive neurons and terminals in the rat cuneate nucleus*. J. Anat. 191 (3): 375-85.
- Lue J.H., Shieh J.Y., Wen C.Y., Chen S.H. (2000). *Cuneothalamic relay neurons are postsynaptic to glycine-immunoreactive terminals in the rat cuneate nucleus*. Synapse. 37(3): 222-31.
- Macefield V.G. (2005). *Physiological characteristics of low-threshold mechanoreceptors in joints, muscle and skin in human subjects*. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 32(1-2): 135-44.
- Mackie P.D., Morley J.W., Zhang H.Q., Murray G.M., Rowe M.J. (1998). *Signalling of static and dynamic features of muscle spindle input by cuneate neurones in the cat*. J. Physiol. 510 (3): 923-39.
- Mackie P.D. y Rowe M.J. (1997). *An intact peripheral nerve preparation for monitoring inputs from single muscle afferent fibres*. Exp. Brain Res. 113(1): 186-8.
- Malcangio M. y Bowery N.G. (1996). *GABA and its receptors in the spinal cord*. Trends. Pharmacol. Sci. 17(12): 457-62.
- Mallart A. (1968). *Thalamic projection of muscle nerve afferents in the cat*. J. Physiol. 194(2): 337-53.
- Mariño J., Canedo A., Aguilar J. (2000). *Sensorimotor cortical influences on cuneate nucleus rhythmic activity in the anesthetized cat*. Neuroscience. 95(3): 657-73.
- Mariño J., Martinez L., Canedo A. (1999). *Sensorimotor integration at the dorsal column nuclei*. News Physiol. Sci. 14: 231-237.
- Martinez L., Lamas J.A., Canedo A. (1995). *Pyramidal tract and corticospinal neurons with branching axons to the dorsal column nuclei of the cat*. Neuroscience. 68(1): 195-206.
- Matsuyama K., Ohta Y., Mori S. (1988). *Ascending and descending projections of the nucleus reticularis gigantocellularis in the cat demonstrated by the anterograde*

- neural tracer, *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin (PHA-L). *Brain Res.* 460(1): 124-41.
- Matthews P.B. (1981). *Evolving views on the internal operation and functional role of the muscle spindle.* *J. Physiol.* 320: 1-30.
- Matthews P.B. y Stein R.B. (1969). *The sensitivity of muscle spindle afferents to small sinusoidal changes of length.* *J. Physiol.* 200(3): 723-43.
- McCloskey D.I., Cross M.J., Honner R., Potter E.K. (1983). *Sensory effects of pulling or vibrating exposed tendons in man.* *Brain.* 106 (1): 21-37.
- McCloskey D.I. (1978). *Kinesthetic sensibility.* *Physiol. Rev.* 58(4): 763-820.
- McCurdy M.L., Houk J.C., Gibson A.R. (1998). *Organization of ascending pathways to the forelimb area of the dorsal accessory olive in the cat.* *J. Comp. Neurol.* 392(1): 115-33.
- Mense S. (1990). *Structure-function relationships in identified afferent neurones.* *Anat. Embryol. (Berl).* 181(1): 1-17.
- Millar J. (1973). *Joint afferent fibres responding to muscle stretch, vibration and contraction.* *Brain Res.* 63: 380-3.
- Millar J. (1975). *Flexion-extension sensitivity of elbow joint afferents in cat.* *Exp. Brain Res.* 24(2): 209-14.
- Millar J. (1979). *Convergence of joint, cutaneous and muscle afferents onto cuneate neurones in the cat.* *Brain Res.* 175(2): 347-50.
- Millar J. y Basbaum A.I. (1975). *Topography of the projection of the body surface of the cat to cuneate and gracile nuclei.* *Exp. Neurol.* 49(1): 281-90
- Millar J., Basbaum A.I., Wall P.D. (1976). *Restructuring of the somatotopic map and appearance of abnormal neuronal activity in the gracile nucleus after partial deafferentation.* *Exp. Neurol.* 50(3): 658-72.
- Murphy J.T., Kwan H.C., MacKay W.A., Wong Y.C. (1982). *Precentral unit activity correlated with angular components of a compound arm movement.* *Brain Res.* 246(1): 141-5.
- Murphy J.T., Wong Y.C., Kwan H.C. (1985). *Sequential activation of neurons in primate motor cortex during unrestrained forelimb movement.* *J. Neurophysiol.* 53(2): 435-45.
- Newberry N.R. y Simmonds M.A. (1984). *The rat gracile nucleus in vitro: II. Field potentials and their conditioned depression.* *Brain Res.* 303(1): 51-7.
- Noga B.R., Kriellaars D.J., Brownstone R.M., Jordan L.M. (2003). *Mechanism for activation of locomotor centers in the spinal cord by stimulation of the mesencephalic locomotor region.* *J. Neurophysiol.* 90(3): 1464-78.
- Noga B.R., Kriellaars D.J., Jordan L.M. (1991). *The effect of selective brainstem or spinal cord lesions on treadmill locomotion evoked by stimulation of the mesencephalic or pontomedullary locomotor regions.* *J. Neurosci.* 11(6): 1691-700.
- Nyberg G. y Blomqvist A. (1982). *The termination of forelimb nerves in the feline cuneate nucleus demonstrated by the transganglionic transport method.* *Brain Res.* 248(2): 209-22.
- Nyberg G. y Blomqvist A. (1984). *The central projection of muscle afferent fibres to the lower medulla and upper spinal cord: an anatomical study in the cat with the transganglionic transport method.* *J. Comp. Neurol.* 230(1): 99-109.
- Nyberg-Hansen R. (1965). *Sites and mode of termination of reticulo-spinal fibers in the cat. An experimental study with silver impregnation methods.* *J. Comp. Neurol.* 124: 71-99.
- O'Brien J.A. y Berger A.J. (1999). *Cotransmission of GABA and glycine to brain stem motoneurons.* *J. Neurophysiol.* 82(3): 1638-41.
- Oscarsson O. y Rosén I. (1963). *Projection to cerebral cortex of large muscle-spindle afferents in forelimb nerves of the cat.* *J. Physiol.* 169: 924-45.

- Oscarsson O., Rosén I., Sulg I. (1966). *Organization of neurones in the cat cerebral cortex that are influenced from group I muscle afferents*. J. Physiol. 183(1): 189-210.
- Ottoson D. y Shethherd G.M. (1971). *Transducer Properties and Integrative Mechanisms in the Frog's Muscle Spindle*. In: Hand book of Sensory Physiology. Antrum H., Jung R., Loewenstein W.R., Mackay D.M., Tember H.L. (eds). Springer. Berlin. Vol. I. Chapter 15; 443-99.
- Palmeri A., Bellomo M., Giuffrida R., Sapienza S. (1999). *Motor cortex modulation of exteroceptive information at bulbar and thalamic lemniscal relays in the cat*. Neuroscience. 88(1): 135-50.
- Panetsos F., Nuñez A., Avendaño C. (1995). *Local anaesthesia induces immediate receptive field changes in nucleus gracilis and cortex*. Neuroreport. 7(1): 150-2.
- Panetsos F., Nuñez A., Avendaño C. (1997). *Electrophysiological effects of temporary deafferentation on two characterized cell types in the nucleus gracilis of the rat*. Eur. J. Neurosci. 9(3): 563-72.
- Peterson B.W. (1979). *Reticulospinal projections to spinal motor nuclei*. Annu. Rev. Physiol. 41: 127-40.
- Peterson B.W., Maunz R.A., Pitts N.G., Mackel R.G. (1975). *Patterns of projection and branching of reticulospinal neurons*. Exp. Brain Res. 23(4): 333-51.
- Peterson B.W., Pitts N.G., Fukushima K., Mackel R. (1978). *Reticulospinal excitation and inhibition of neck motoneurons*. Exp. Brain Res. 32(4): 471-89.
- Petras J.M. (1967). *Cortical, tectal and tegmental fiber connections in the spinal cord of the cat*. Brain Res. 6(2): 275-324.
- Pettit M.J. y Schwark H.D. (1993). *Receptive field reorganization in dorsal column nuclei during temporary denervation*. Science. 262(5142): 2054-6.
- Pfeiffer F., Simler R., Grenningloh G., Betz H. (1984). *Monoclonal antibodies and peptide mapping reveal structural similarities between the subunits of the glycine receptor of rat spinal cord*. Pro. Natl. Acad. Sci. USA. 81(22): 7224-7.
- Popratiloff A., Rustioni A., Weinberg R.J. (1997). *Heterogeneity of AMPA receptors in the dorsal column nuclei of the rat*. Brain Res. 754(1-2): 333-9.
- Popratiloff A., Valtschanoff J.G., Rustioni A., Weinberg R.J. (1996). *Colocalization of GABA and glycine in the rat dorsal column nuclei*. Brain Res. 706(2): 308-12.
- Pourcho R.G., Goebel D.J., Jojich L., Hazlett J.C. (1992). *Immunocytochemical evidence for the involvement of glycine in sensory centers of the rat brain*. Neuroscience. 46(3): 643-56.
- Prochazka A. y Hulliger M. (1998). *The continuing debate about CNS control of proprioception*. J. Physiol. 513 (2): 315.
- Provins K.A. (1958). *The effect of peripheral nerve block on the appreciation and execution of finger movements*. J. Physiol. 143(1): 55-67.
- Roberts P.J. (1974). *The release of amino acids with proposed neurotransmitter function from the cuneate and gracile nuclei of the rat in vivo*. Brain Res. 67(3): 419-28.
- Rosén I. (1969a). *Localization in caudal brain stem and cervical spinal cord of neurones activated from forelimb group I afferents in the cat*. Brain Res. 16(1): 55-71.
- Rosén I. (1969b). *Afferent connexions to group I activated cells in the main cuneate nucleus of the cat*. J. Physiol. 205(1): 209-36.
- Rosén I. (1969c). *Excitation of group I activated thalamocortical relay neurones in the cat*. J. Physiol. 205(1): 237-55.
- Rosén I. (1972). *Projection of forelimb group I muscle afferents to the cat cerebral cortex*. Int. Rev. Neurobiol. 15: 1-25.
- Rosén I. y Asanuma H. (1972). *Peripheral afferent inputs to the forelimb area of the monkey motor cortex: input-output relations*. Exp. Brain Res. 14(3): 257-73.
- Rosén I. y Asanuma H. (1973). *Natural stimulation of group I activated cells in the cerebral cortex of the awake cat*. Exp. Brain Res. 16(3): 247-54.

- Rosén I. y Sjölund B. (1973a). *Organization of group I activated cells in the main and external cuneate nuclei of the cat: identification of muscle receptors*. Exp. Brain Res. 6(3): 221-37.
- Rosén I. y Sjölund B. (1973b). *Organization of group I activated cells in the main and external cuneate nuclei of the cat: convergence patterns demonstrated by natural stimulation*. Exp. Brain Res. 16(3): 238-46.
- Rossignol S., Dubuc R., Gossard J.P. (2006). *Dynamic sensorimotor interactions in locomotion*. Physiol. Rev. 86(1): 89-154.
- Russier M., Kopysova I.L., Ankri N., Ferrand N., Debanne D. (2002). *GABA and glycine co-release optimizes functional inhibition in rat brainstem motoneurons in vitro*. J. Physiol. 541(Pt 1): 123-37.
- Rustioni A. y Hayes N.L. (1981). *Corticospinal tract collaterals to the dorsal column nuclei of cats. An anatomical single and double retrograde tracer study*. Exp. Brain Res. 43(3-4): 237-45.
- Rustioni A., Schmechel D.E., Cheema S., Fitzpatrick D. (1984). *Glutamic acid decarboxylase-containing neurons in the dorsal column nuclei of the cat*. Somatosens. Res. 1(4): 329-57.
- Rustioni A. y Weinberg R.J. (1989). *The Somatosensory system*. In Björklund A., Hökfelt T. and Swanson L.W. (Eds.). *Handbook of Chemical Neuroanatomy, Vol.7: Integrated Systems of the CNS, Part II*. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, pp. 219-321.
- Samuel E.P. (1952). *The autonomic and somatic innervation of the articular capsule*. Anat. Rec. 113(1): 53-70.
- Sahai V., Mahns D.A., Robinson L., Perkins N.M., Coleman G.T., Rowe M.J. (2006). *Processing of vibrotactile inputs from hairy skin by neurons of the dorsal column nuclei in the cat*. J. Neurophysiol. 95(3): 1451-64.
- Schäfer S.S. (1995). *Changes in primary muscle spindle ending excitability induced by a ramp-and-hold stretch*. Brain Res. 705(1-2): 216-24.
- Schepens B. y Drew T. (2004). *Independent and convergent signals from the pontomedullary reticular formation contribute to the control of posture and movement during reaching in the cat*. J. Neurophysiol. 92(4): 2217-38.
- Schröder S., Hoch W., Becker C.M., Grenningloh G., Betz H. (1991). *Mapping of antigenic epitopes on the alpha 1 subunit of the inhibitory glycine receptor*. Biochemistry. 30(1): 42-7.
- Shik M.L., Orlovsky G.N., Severin F.V. (1966). *Organization of locomotor synergism*. Biophysics. 11: 1011-1019.
- Silverthorn D.U. (2008). *Fisiología integral I: control del movimiento corporal*. En: Fisiología humana: un enfoque integrado. Médica Panamericana. Buenos Aires. Cap. 13. pp. 435-455.
- Soso M.J. y Fetz E.E. (1980). *Responses of identified cells in postcentral cortex of awake monkeys during comparable active and passive joint movements*. J. Neurophysiol. 43(4): 1090-110.
- Soto C., Aguilar J., Martín-Cora F., Rivadulla C., Canedo A. (2004). *Intracuneate mechanisms underlying primary afferent cutaneous processing in anaesthetized cats*. Eur. J. Neurosci. 19(11): 3006-16.
- Soto C., Martín-Cora F., Leiras R., Velo P., Canedo A. (2006). *GABA(B) receptor-mediated modulation of cutaneous input at the cuneate nucleus in anesthetized cats*. Neuroscience. 137(3): 1015-30.
- Soto C., Martín-Cora F.J., Leiras R., Velo P., Canedo A. (2008). *Processing noxious information at the subnucleus reticularis dorsalis (SRD) of anesthetized cats: wind-up mechanisms*. Pain. 140(1): 190-208.
- Stuart D.G., Mosher C.G., Gerlach R.L., Reinking R.M. (1970). *Selective activation of Ia afferents by transient muscle stretch*. Exp. Brain Res. 10(5): 477-87.

- Sturnieks D.L., Wright J.R., Fitzpatrick R.C. (2007). *Detection of simultaneous movement at two human arm joints*. J. Physiol. 585(3): 833-42.
- Surmeier D.J. y Towe A.L. (1987). *Properties of proprioceptive neurons in the cuneate nucleus of the cat*. J. Neurophysiol. 57(4): 938-61.
- Swadlow H.A. (1982). *Antidromic activation: measuring the refractory period at the site of axonal stimulation*. Exp. Neurol. 75(2): 514-9.
- Swadlow H.A., Waxman S.G., Rosene D.L. (1978). *Latency variability and the identification of antidromically activated neurons in mammalian brain*. Exp. Brain Res. 32(3): 439-43.
- Swett J.E. y Eldred E. (1960). *Distribution and numbers of stretch receptors in medial gastrocnemius and soleus muscles of the cat*. Anat. Rec. 137: 453-60.
- Takakusaki K., Habaguchi T., Ohtinata-Sugimoto J., Saitoh K., Sakamoto T. (2003). *Basal ganglia efferents to the brainstem centers controlling postural muscle tone and locomotion: a new concept for understanding motor disorders in basal ganglia dysfunction*. Neuroscience. 119(1): 293-308.
- Taylor A., Durbaba R., Rodgers J.F. (1992a). *The classification of afferents from muscle spindles of the jaw-closing muscles of the cat*. J. Physiol. 456: 609-28.
- Taylor A., Rodgers J.F., Fowle A.J., Durbaba R. (1992b). *The effect of succinylcholine on cat gastrocnemius muscle spindle afferents of different types*. J. Physiol. 456: 629-44.
- Todd A.J., Spike R.C., Chong D., Neilson M. (1995). *The relationship between glycine and gephyrin in synapses of the rat spinal cord*. Eur. J. Neurosci. 7(1): 1-11.
- Towe A.L. y Jabbur S.J. (1961). *Cortical inhibition of neurons in dorsal column nuclei of cat*. J. Neurophysiol. 24: 488-98.
- Tracey D.J. (1979). *Characteristics of wrist joint receptors in the cat*. Exp. Brain Res. 34(1): 165-76.
- Tracey D.J. (1980). *The projection of joint receptors to the cuneate nucleus in the cat*. J. Physiol. 305: 433-49.
- Walberg F. (1965). *Axoaxonic contacts in the cuneate nucleus, probable basis for presynaptic depolarization*. Exp Neurol. 13(2): 218-31.
- Weerakkody N.S., Mahns D.A., Taylor J.L., Gandevia S.C. (2007). *Impairment of human proprioception by high-frequency cutaneous vibration*. J. Physiol. 581(3): 971-80.
- Weerakkody N.S., Taylor J.L., Gandevia S.C. (2009). *The effect of high-frequency cutaneous vibration on different inputs subserving detection of joint movement*. Exp. Brain Res. 197(4): 347-55.
- Weinberg R.J. y Rustioni A. (1989). *Brainstem projections to the rat cuneate nucleus*. J. Comp. Neurol. 282(1): 142-56.
- Weisberg J.A. y Rustioni A. (1979). *Differential projections of cortical sensorimotor areas upon the dorsal column nuclei of cats*. J. Comp. Neurol. 184(2): 401-21.
- Westman J., Blomqvist A., Köhler C., Wu J.Y. (1984). *Light and electron microscopic localization of glutamic acid decarboxylase and substance P in the dorsal column nuclei of the cat*. Neurosci. Lett. 51(3): 347-52.
- Whelan P.J. (1996). *Control of locomotion in the decerebrate cat*. Prog. Neurobiol. 49(5): 481-515.
- Wiberg M. y Blomqvist A. (1984). *The projection to the mesencephalon from the dorsal column nuclei. An anatomical study in the cat*. Brain Res. 311(2): 225-44.
- Wiesendanger M. (1973). *Input from muscle and cutaneous nerves of the hand and forearm to neurones of the precentral gyrus of baboons and monkeys*. J. Physiol. 228(1): 203-19.
- Wiesendanger M. y Miles T.S. (1982). *Ascending pathway of low-threshold muscle afferents to the cerebral cortex and its possible role in motor control*. Physiol. Rev. 62(4): 1234-70.

- Winn P. (2008). *Experimental studies of pedunculopontine functions: are they motor, sensory or integrative?* Parkinsonism Relat. Disord. 14 Suppl 2: S194-8.
- Wilson V.J., Yoshida M., Schor R.H. (1970). *Supraspinal monosynaptic excitation and inhibition of thoracic back motoneurons.* Exp. Brain Res. 11(3): 282-95.
- Wree A., Itzev D.E., Schmitt O., Usunoff K.G. (2005). *Neurons in the dorsal column nuclei of the rat emit a moderate projection to the ipsilateral ventrobasal thalamus.* Anat. Embryol (Berl). 210(3): 155-62.
- Young A.B. y Snyder S.H. (1973). *Strychnine binding associated with glycine receptors of the central nervous system.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 70(10): 2832-6.
- Zarbin M.A., Wamsley J.K., Kuhar M.J. (1981). *Glycine receptor: light microscopic autoradiographic localization with [3H]strychnine.* J Neurosci. 1(5): 532-47.
- Zarzecki P., Shinoda Y., Asanuma H. (1978). *Projection from area 3a to the motor cortex by neurons activated from group I muscle afferents.* Exp. Brain Res. 33(2): 269-82.
- Zarzecki P. y Wiggin D.M. (1982). *Convergence of sensory inputs upon projection neurons of somatosensory cortex.* Exp. Brain Res. 48(1): 28-42.

APÉNDICES

Apéndice I: Electrodo metálicos

En este trabajo se emplearon electrodos metálicos de tungsteno y de acero inoxidable con los que se realizaron registros extracelulares unitarios y masivos, y se aplicaron estímulos eléctricos en diferentes estructuras del sistema nervioso central.

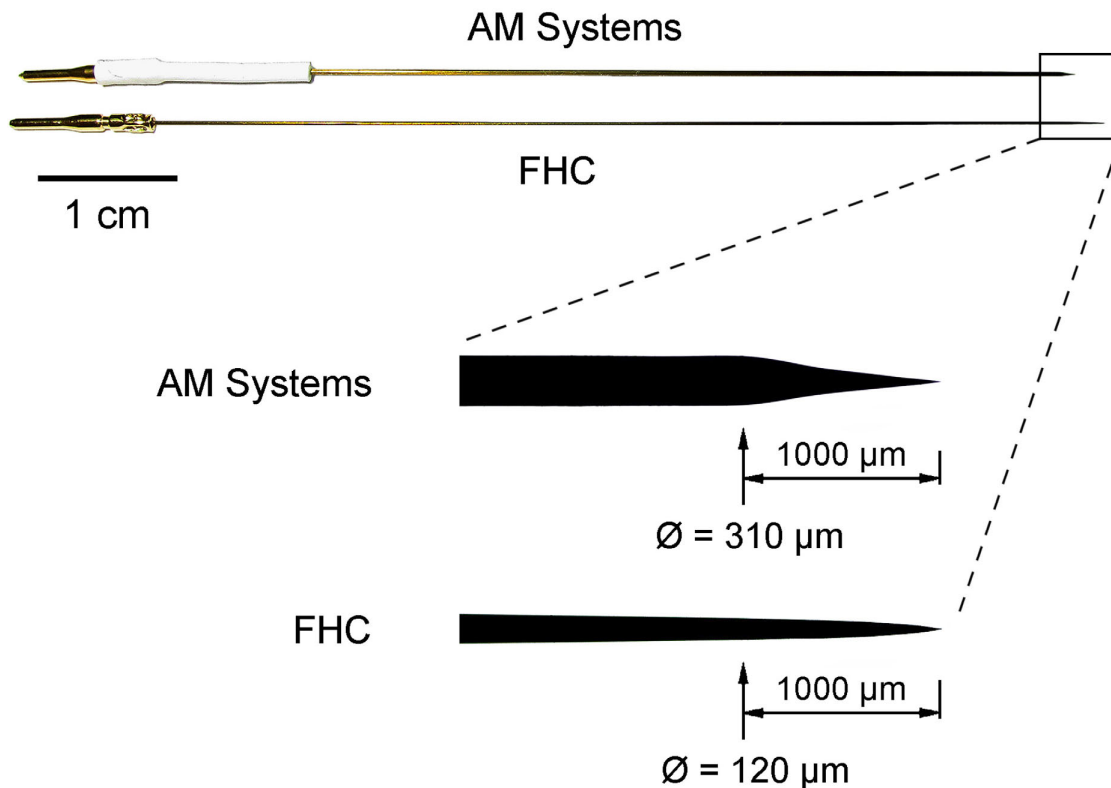
Electrodos de tungsteno.

Para el registro extracelular se utilizaron dos modelos distintos de electrodos de tungsteno, uno de la firma *FHC Inc.*, USA (Ref.: UEWMGESELNNM) y el otro de *AM Systems Inc.*, USA (Ref.: 576000). Las características generales de los dos modelos se resumen en la tabla siguiente.

	Resistencia (MΩ)	Diámetro del vástago (mm)	Longitud (mm)	Ángulo de la punta (°)
<i>AM Systems</i>	≈ 12	0.254	76.0	8
<i>FHC</i>	9 – 12	0.250 → 0.100	61.0 – 70.0	8

Con ambos modelos se consiguen buenos registros unitarios, si bien, los electrodos *FHC* son mucho más delgados en su parte final, por lo que permiten mantener el tejido en mejores condiciones, aun realizando un gran número de penetraciones. En algunos de los experimentos los electrodos de tungsteno también se utilizaron para aplicar estímulos eléctricos.

A continuación, se muestra el aspecto general de los dos tipos de electrodos, así como las diferencias en la forma de la punta de cada uno de ellos.



» Aspecto general y microfotografías de la punta de los electrodos de tungsteno *AM Systems* y *FHC*.

Electrodos de acero inoxidable.

Los electrodos de acero inoxidable se emplearon para aplicar estímulos eléctricos o para realizar registros extracelulares masivos, debido a que presentan una resistencia inferior a $1 \text{ M}\Omega$. Se utilizaron dos tipos de electrodos bipolares distintos: electrodos paralelos y concéntricos, ambos disponibles comercialmente bajo la marca *Rhodes Medical Instruments* (USA).

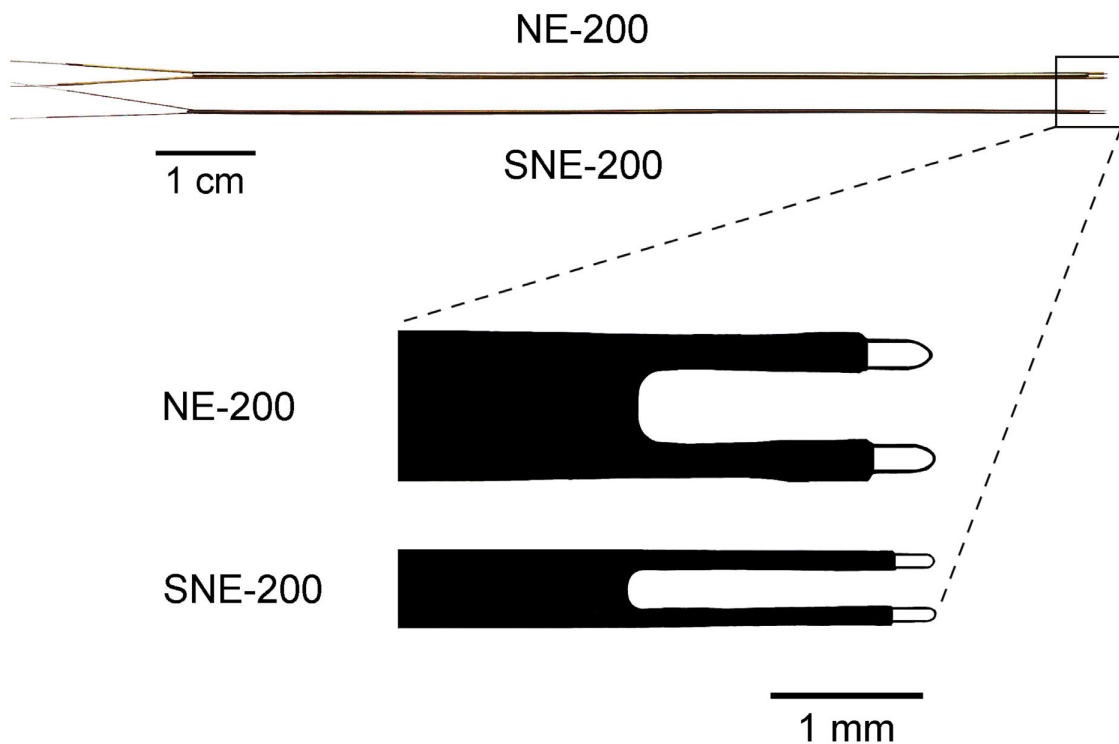
Bipolares paralelos.

Los electrodos paralelos están formados por dos cables recubiertos por una resina aislante (*Epoxi*), que se montan a ambos lados de un vástago central. Los dos cables sobresalen del extremo del vástago y la longitud de estas puntas va a depender del modelo de electrodo del que se trate. Se utilizaron dos modelos diferentes cuyas características se resumen a continuación.

Ref.	Longitud de las puntas	Diámetro de la zona de contacto	Separación entre contactos	Longitud de la zona de contacto
NE-200	2.0	0.2	1.0	0.50
SNE-200	2.0	0.1	0.5	0.25

• Dimensiones en mm.

En el modelo SNE-200 las puntas están menos separadas (500 µm) lo que hace que la superficie estimulada sea menor, pero son los electrodos idóneos para estimular estructuras de pequeño tamaño y además provocan menos daños en el tejido. En la figura se muestran los dos modelos utilizados.



» Fotografía de los electrodos bipolares paralelos *Rhodes Medical Instruments* y microfotografías de sus puntas.

Bipolares concéntricos.

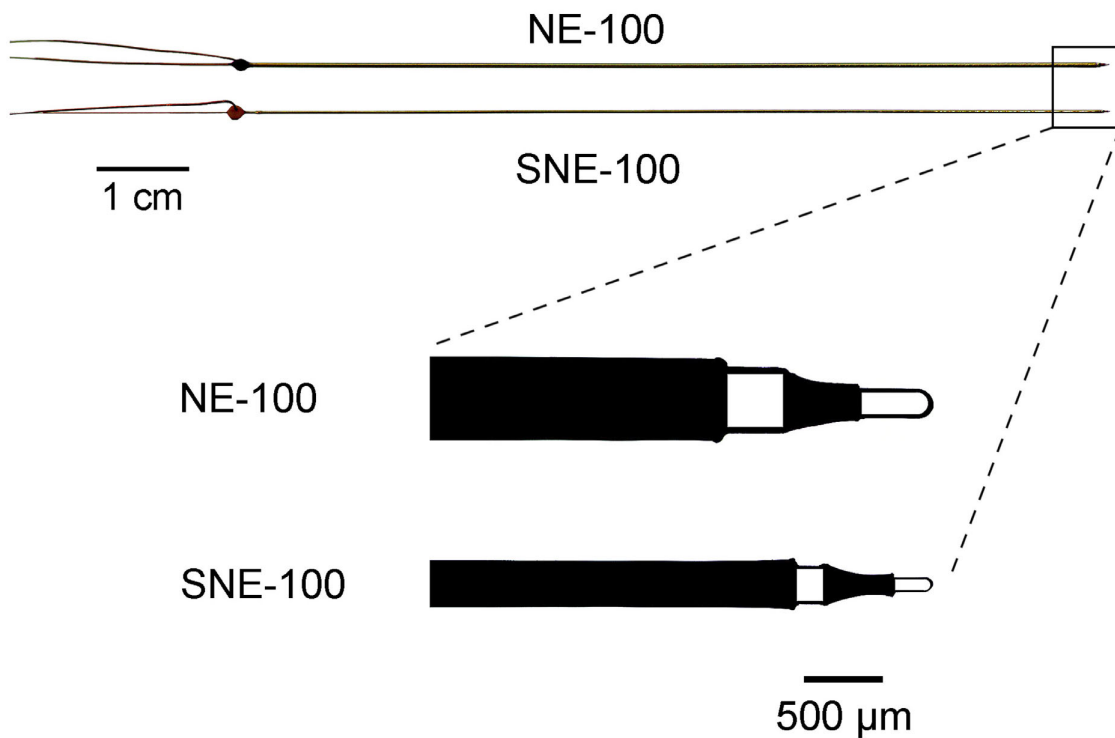
Estos electrodos están contruidos con un vástago central montado en el interior de un tubo y ambas piezas están separadas por resina aislante *epoxi*. El cable central sobresale unas micras (dependiendo del modelo) y no presenta

recubrimiento en la punta, al igual que el borde del tubo. Las zonas no recubiertas conforman la región activa del electrodo. Los electrodos concéntricos dañan menos el tejido que los paralelos y el modelo más delgado (SNE-100), se utilizó para realizar registros masivos además de para estimular eléctricamente.

Las características de los dos modelos empleados se detallan en la siguiente tabla.

Ref.	Diámetro total	Diámetro de la zona de contacto	Diámetro de la punta	Longitud de la zona de contacto
NE-100	0.50	Int.: 0.20 / Ext: 0.50	0.20	Int.:0.50 / Ext.:0.50
SNE-100	0.25	Int.: 0.10 / Ext: 0.25	0.10	Int.:0.25 / Ext.:0.25

• Dimensiones en mm.



» Comparativa entre los dos modelos de bipolares concéntricos.

Apéndice II: Fabricación de pipetas multicanal de vidrio

En los experimentos en los que se utilizó la técnica de la microintoforesis se emplearon electrodos de vidrio de varios canales. Estos electrodos se confeccionan manualmente en nuestro laboratorio, de manera que se pueden optimizar sus características para que se adecúen al máximo al tipo de procedimiento experimental a realizar. El proceso de fabricación es meticuloso y delicado, por lo que se requiere cierta experiencia para poder conseguir electrodos con los que obtener registros unitarios con las características adecuadas.

Las pipetas multicanal se fabrican a partir de capilares de vidrio provistos de un filamento interno de 100 μm de grosor, que facilitará su posterior llenado con las distintas soluciones. Se utilizaron dos tipos de capilares de la marca *Dagan Corporation (USA)*, ambos con un diámetro externo de 1.5 mm pero con un diámetro interno de 1.2 y de 0.85 mm. Las pipetas fabricadas empleando únicamente capilares de pared gruesa son más resistentes, pero esto hace más difícil la manipulación del vidrio y la apertura de la punta cuando la pipeta tiene más de tres canales. Por este motivo, las pipetas de cuatro o más canales se fabrican utilizando un capilar grueso, que se utilizará para el registro, y capilares de pared fina para el resto de canales.

Algunas de las especificaciones técnicas del vidrio utilizado se exponen en la siguiente tabla:

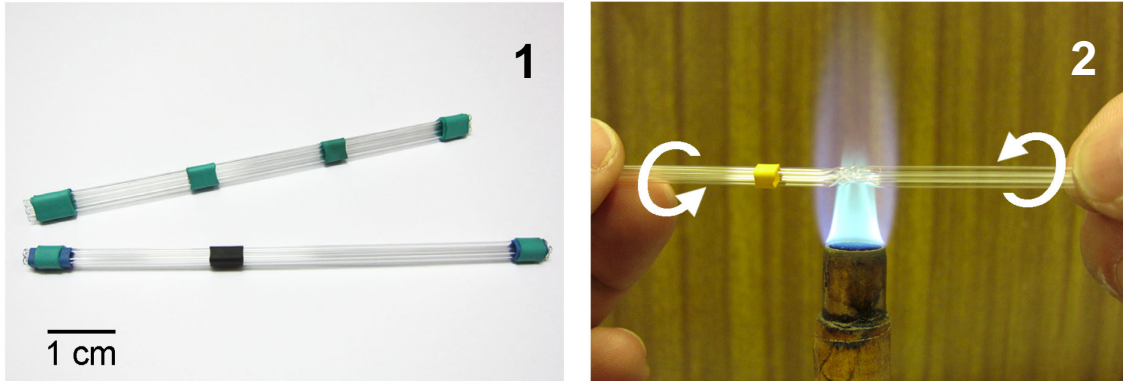
Ref.	Diámetro externo (mm)	Diámetro interno (mm)	T de ablandamiento (°C)	Tipo de vidrio
FLG15	1.50	1.20	821	Borosilicato
FMG15	1.50	0.85	821	Borosilicato

El proceso de fabricación de las pipetas multicanal consta de varios pasos que se describen brevemente a continuación:

1.- Se preparan haces de capilares (con tantos capilares como canales va a tener el electrodo) que se mantienen unidos mediante pequeños fragmentos de tubo retráctil, colocados en los extremos y cerca de la parte central de los capilares, tal y como se muestra en la fotografía.

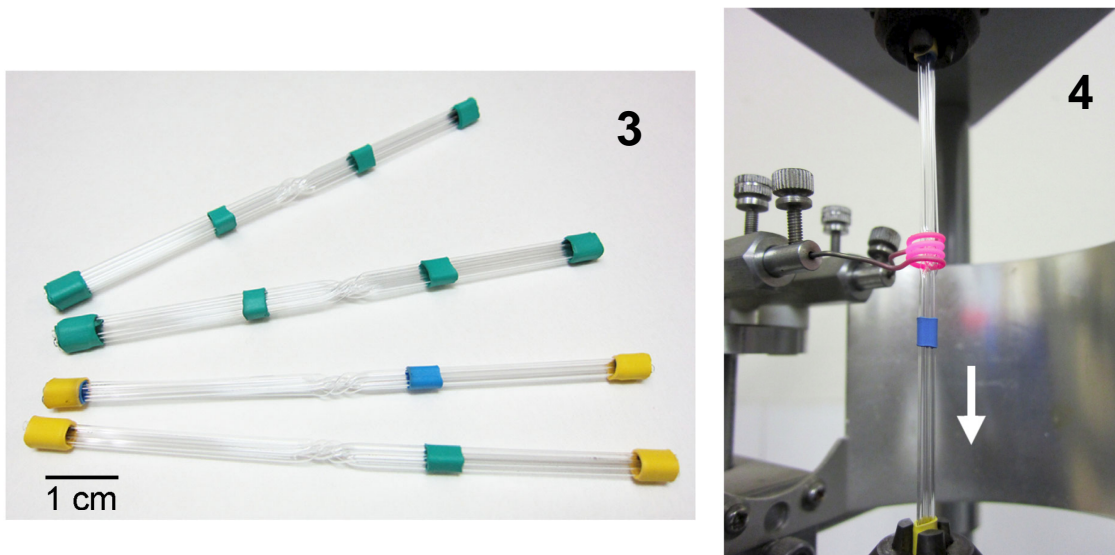
2.- La parte central del haz de capilares se calienta a la llama de un mechero *Bunsen* y mediante un movimiento de torsión de ambas manos, en

sentidos opuestos, se retuerce la parte reblandecida por el calor, aproximadamente un cuarto de vuelta. Hay que poner especial cuidado para que los capilares queden lo más rectos posible tras esta operación.

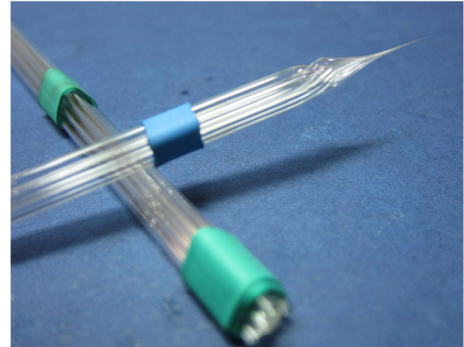


3.- Los haces de capilares ya girados, se colocan en un estirador vertical (PE-2 Narishige, Japón) situando la parte retorcida a la altura de la resistencia.

4.- Una vez posicionado el haz se calienta la resistencia, lo que hará que el vidrio se ablande de nuevo y se estire por la zona deseada. Esta operación se puede repetir varias veces, controlando el calor y el tiempo que se aplica, para darle a la punta de la pipeta la longitud y la forma adecuadas.

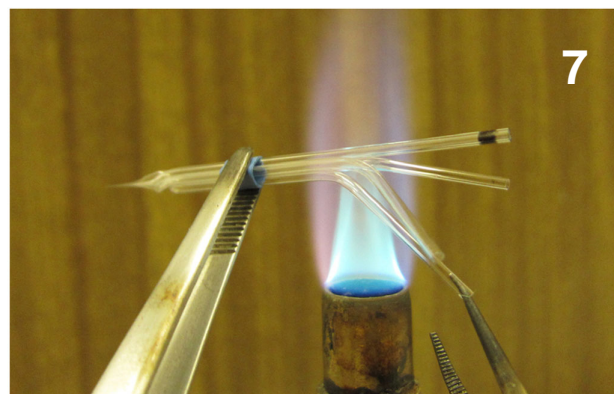
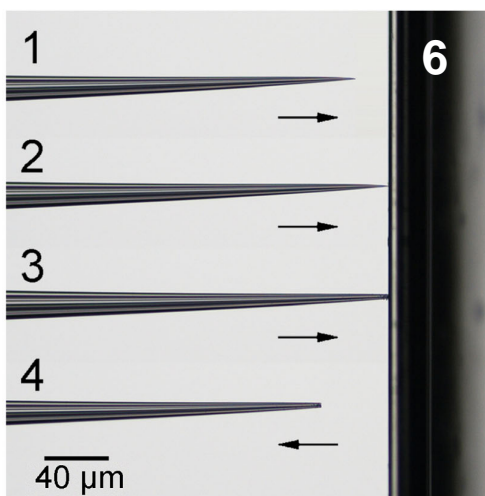


5.- Finalmente, cuando el vidrio se calienta suficientemente las dos mitades del haz de capilares se separan, generando dos pipetas de punta muy fina y cerrada, en la que la luz de cada capilar permanece independiente. En la mayoría de los casos sólo una de las dos mitades presenta las características deseadas.

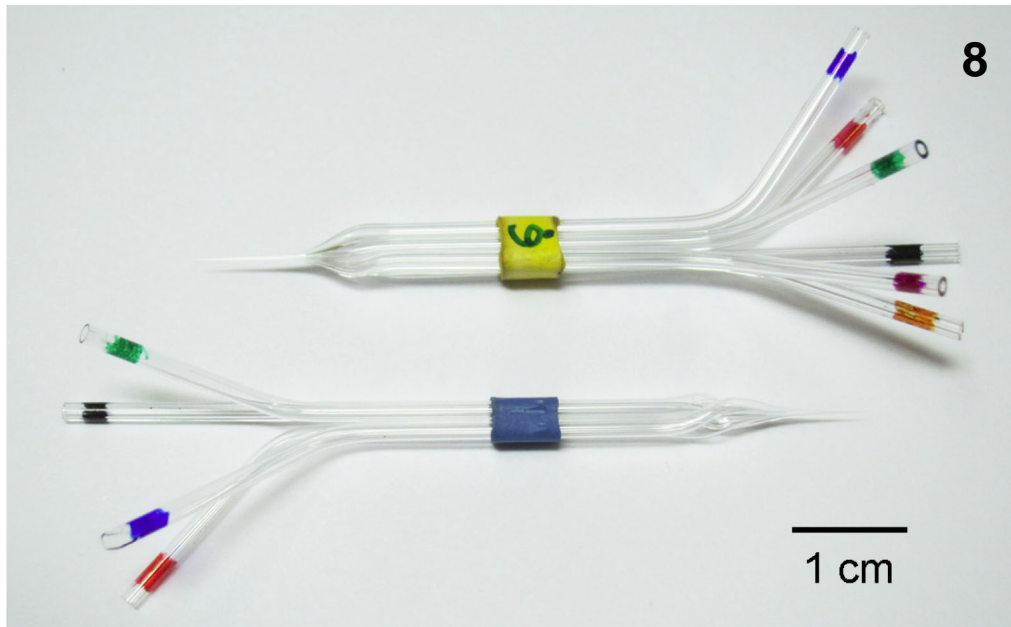


6.- El paso siguiente consiste en la rotura de la punta bajo el microscopio, para dotarla del diámetro que le proporcionará la resistencia eléctrica adecuada que permitirá conseguir registros unitarios. El diámetro total de la punta va a depender del número de canales del que conste la pipeta. A título orientativo, el canal de registro debería presentar un diámetro aproximado de $1\ \mu\text{m}$ por lo que el diámetro total de la punta de las pipetas utilizadas osciló entre $4\ \mu\text{m}$ y $6\ \mu\text{m}$ para las de cuatro canales, y entre $6\ \mu\text{m}$ y $9\ \mu\text{m}$ para las de seis canales.

7.- Los capilares que se van a llenar con los fármacos y el canal de balance de corriente, se calientan a la llama y se separan del canal de registro que se mantiene recto. Esto permite el montaje de la pipeta en el seguidor de cátodo y facilita la posterior colocación de los electrodos de plata clorada, a través de los cuales se aplicará la corriente de eyección o retención.

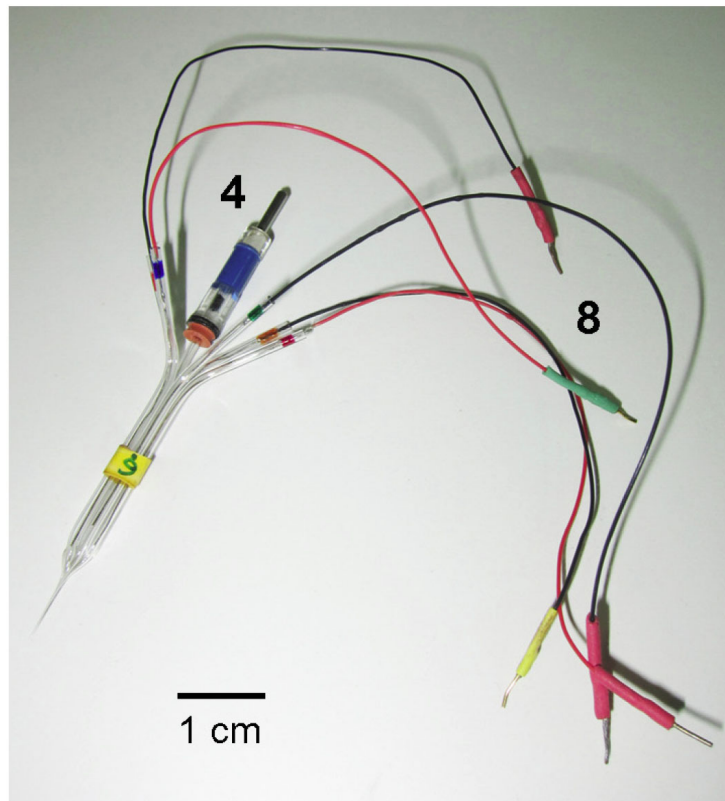


8.- Por último, se marca cada canal con un color diferente para su fácil identificación, asociándose un color a cada una de las soluciones que se van a utilizar. Esto evitará confusiones a la hora del llenado y la conexión con los canales de la bomba de microiontoforesis.

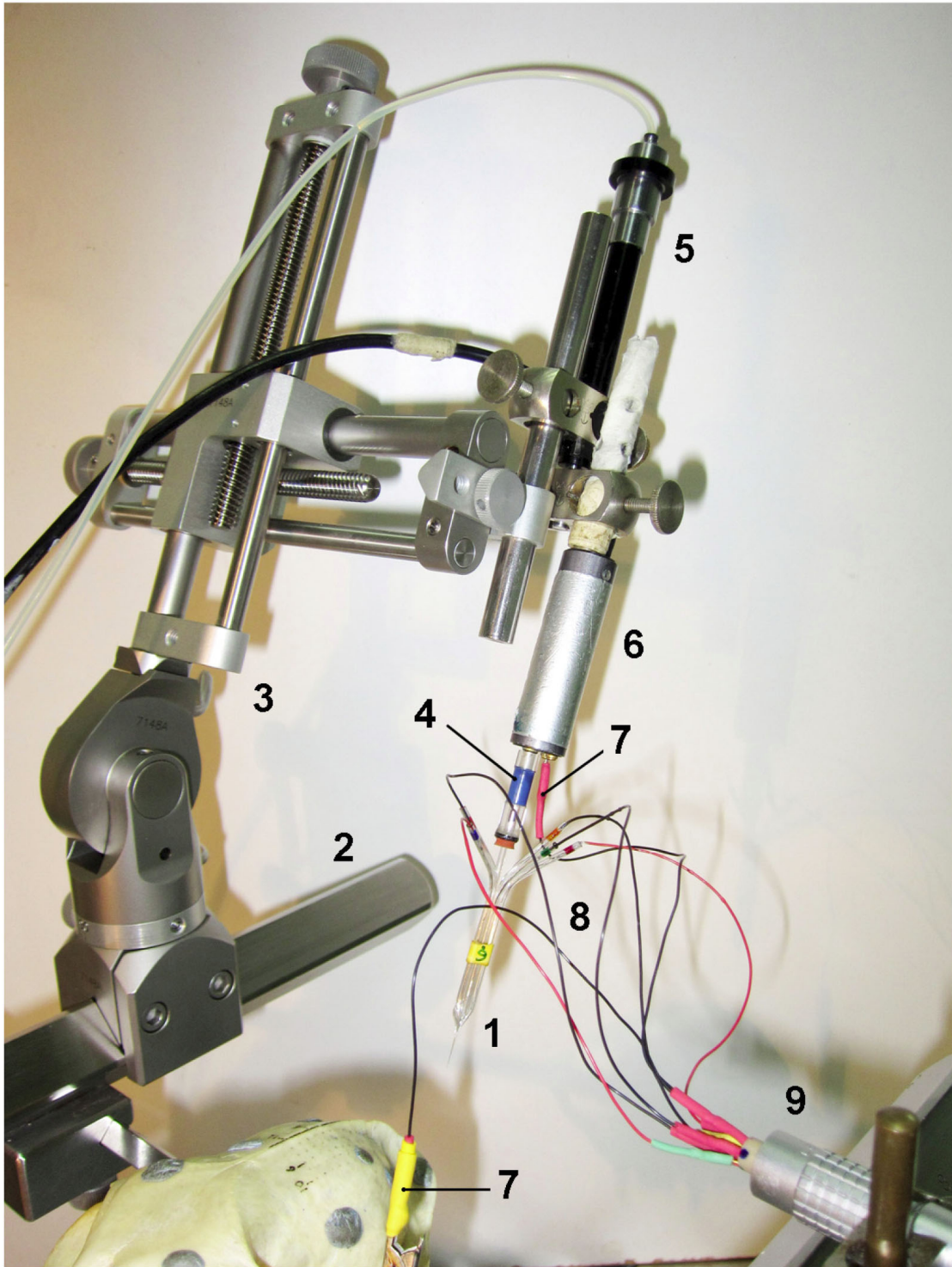


Una vez finalizado el proceso de fabricación, el siguiente paso es el llenado de todos los canales con las diferentes soluciones a utilizar. Independientemente del tipo de electrodo del que se trate, contará siempre con un canal de registro y otro de balance de corriente. El canal de registro se carga con una solución de cloruro sódico 3.0 M y el de balance con el disolvente en el que han sido disueltos los fármacos. Hay que garantizar la continuidad de la columna de líquido a lo largo de todo el canal, especialmente en la punta, evitando la formación de burbujas que dificultarían tanto el registro como la eyección de los fármacos.

Con todos los canales cargados, el canal de registro se acopla a un adaptador (4) que posteriormente se conectará a un seguidor de cátodo (6, en la foto del preparado final), montado en un micromanipulador hidráulico (5). A continuación se introducen los electrodos de plata clorada (8) en el canal de balance y los canales de los fármacos, y se conectan a la bomba de microiontoforesis (9).



Con este último paso finaliza el montaje de la pipeta que estaría lista para dar comienzo al proceso de registro. En la página siguiente se muestra el preparado completo de la pipeta montada en una torre estereotáctica y conectada a la bomba de microiontoforesis.



» Preparación de la torre estereotáxica en la que se monta la pipeta multicanal.
1: pipeta de 6 canales y punta de 6 μm de diámetro; 2: aparato de estereotaxia; 3: torre estereotáxica; 4: adaptador; 5: micromanipulador hidráulico; 6: seguidor de cátodo; 7: cable de tierra; 8: electrodos de plata en contacto con las soluciones; 9: conexión a la bomba de microiontoforesis.

Apéndice III: Protocolos de tinción

Los colorantes utilizados fueron el rojo neutro y la tionina en acetato, dos tinciones que ponen de manifiesto las células al marcar los cuerpos de Nilss.

Tinción con ROJO NEUTRO

1. Agua destilada	30 s
2. Etanol 50%	30 s
3. Etanol 70%	15 s
4. Etanol 95%	15 s
5. Etanol 100%	15 s
6. Etanol 100%	15 s
7. Xileno	4 min.
8. Etanol 100%	15 s
9. Etanol 100%	15 s
10. Etanol 95%	15 s
11. Etanol 70%	15 s
12. Etanol 50%	30 s
13. Agua destilada	30 s
14. ROJO NEUTRO	10 s (cortes de 70 μ m)
15. Agua destilada	30 s
16. Etanol 50%	30 s
17. Etanol 70%	15 s
18. Etanol 95%	15 s
19. Etanol 100%	15 s
20. Etanol 100%	15 s
21. Xileno	4 min.

Tinción con TIONINA en acetato

1. Agua destilada	30 s
2. Etanol 50%	30 s
3. Etanol 70%	15 s
4. Etanol 95%	15 s
5. Etanol 100%	15 s
6. Etanol 100%	15 s
7. Xileno	4 min.
8. Etanol 100%	15 s
9. Etanol 100%	15 s
10. Etanol 95%	15 s
11. Etanol 70%	15 s
12. Etanol 5%	30 s
13. Agua destilada	30 s
14. TIONINA	15 s (cortes de 70 µm)
15. Agua destilada	30 s
16. Etanol 50%	30 s
17. Etanol 70%	15 s
18. Etanol 95%	15 s
19. Etanol 100%	15 s
20. Etanol 100%	15 s
21. Xileno	4 min.

Los cortes una vez teñidos se cubrieron con un cubreobjetos y resina de montaje (DePeX, VWR International Ltd., UK).

