



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA

**ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA POBLACIONAL DE LA
MÉDULA ESPINAL CERVICO-TORÁCICA DURANTE LA LOCOMOCIÓN
FICTICIA ESPONTÁNEA Y DEL FENÓMENO DE LA LOCOMOCIÓN
POST-RASCADO EN EL GATO DESCEREBRADO**

Tesis de Doctorado en Ciencias Fisiológicas

Presenta:

M.C. Argelia Trejo Cisneros

Director de tesis: D.C. Elias Manjarrez López

ÍNDICE

I. LISTA DE ABREVIATURAS	6
II. RESUMEN	9
III. INTRODUCCIÓN	
CINEMÁTICA Y ACTIVIDAD MUSCULAR DE LAS EXTREMIDADES ANTERIORES Y POSTERIORES DURANTE LA LOCOMOCIÓN	12
PREPARACION PARA EL ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA	18
TRACTOS ASCENDENTES Y DESCENTES RELACIONADOS CON LA LOCOMOCIÓN	23
EL REFLEJO DEL RASCADO	25
EL GENERADOR CENTRAL DE PATRONES	28
EL GENERADOR CENTRAL DE PATRONES DE LA LOCOMOCIÓN Y DEL RASCADO	36
MODELOS DEL GENERADOR CENTRAL DE PATRONES	40
ONDAS DE POTENCIAL ELÉCTRICO SINUSOIDAL DURANTE DOS TAREAS RITMICAS	51
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	54
V. HIPÓTESIS	56

VI.	OBJETIVOS GENERALES	56
VII.	OBJETIVOS PARTICULARES	59
VIII.	MÉTODOLOGÍA	57
	DESCEREBRACIÓN	61
	REFLEJO DEL RASCADO	62
	REGISTRO DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA ESPINAL	63
	ANÁLISIS DE DATOS	66
	EXPERIMENTOS CONDUCTUALES	73
	MODELO COMPUTACIONAL	77
IX.	RESULTADOS	78
	REGISTRO DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA POBLACIONAL EN EL DORSO DE LA MÉDULA ESPINAL EN SEGMENTOS CERVICALES C1-C3 DURANTE LA LOCOMOCIÓN FICTICIA ESPONTÁNEA	78
	REGISTRO DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA POBLACIONAL EN EL DORSO DE LA MÉDULA ESPINAL EN SEGMENTOS CERVICALES Y TORÁCICOS DURANTE LA LOCOMOCIÓN FICTICIA ESPONTÁNEA	78
	AMPLITUD MEDIA DE LOS POTENCIALES SINUSOIDALES DEL DORSO DE LA MÉDULA ESPINAL EN SEGMENTOS CERVICO-TORÁCICOS Y EN SEGMENTOS LUMBO-SACROS	84

AMPLITUD MÁXIMA DE LOS POTENCIALES SINUSOIDALES CERVICO-TORÁDICOS	86
DURACIÓN DEL CICLO DE LAS ONDAS SINUSOIDALES REGISTRADAS EN LOS SEGMENTOS C4-T1 ESTÁ CORRELACIONADA CON LA DURACIÓN DEL CICLO DE LAS ONDAS SINUSOIDALES REGISTRADAS EN L4- S1	89
LA FRECUENCIA DE LAS ONDAS SINUSOIDALES REGISTRADAS EN SEGMENTOS CERVICO-TORÁDICOS ES SIMILAR QUE LAS REGISTRADA EN SEGMENTOS LUMBOSACROS	94
LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO	96
LATENCIA ENTRE EL EPISODIO DE RASCADO FICTICIO Y EL INICIO DEL EPISODIO DE LOCOMOCION POST-RASCADO	97
PORCENTAJE DE EPISODIOS DE LOCOMOCIÓN POST-RASCADO RESPECTO AL TOTAL DE EPISODIOS DE RASCADO	99
COMPARACIÓN ENTRE LA DURACIÓN MEDIA DE LOS CICLOS DE RASCADO FICTICIO Y LA DURACIÓN DE LOS CICLOS DE LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO	102
COMPARACIÓN ENTRE LA FRECUENCIA INSTANTÁNEA DE LOS CICLOS DE RASCADO FICTICIO Y LOS CICLOS DE LOCOMOCIÓN FICTICIA POSTRASCADO	105

MEDICIÓN DEL CICLO DE TRABAJO Y DE LA AMPLITUD DE LAS DESCARGAS DE NERVIOS FLEXORES Y EXTENSORES DURANTE LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO	107
FRECUENCIA DE LAS ONDAS SINUSOIDALES REGISTRADAS DURANTE EL RASCADO FICTICIO Y LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO	109
DISTRIBUCIÓN INTERSEGMENTAL DE LA AMPLITUD DE LAS ONDAS DE POTENCIAL ELÉCTRICO SINUSOIDALES REGISTRADAS EN LA MÉDULA ESPINAL DURANTE EL RASCADO FICTICIO Y LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO	112
PROPAGACIÓN DE LOS POTENCIALES DEL DORSO DE LA MÉDULA SINUSOIDALES ASOCIADOS A LA LOCOMOCIÓN POST-RASCADO	114
REGISTRO DE INTERNEURONAS RÍTMICAMENTE ACTIVAS DURANTE EL RASCADO Y DURANTE LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO	116
ANÁLISIS DE LAS INTERNEURONAS REGISTRADAS	118
ANÁLISIS COMPARATIVO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA LOCOMOCIÓN ESPONTANEA Y LA LOCOMOCIÓN POST-RASCADO	123
CORRELATO CONDUCTUAL DEL FENÓMENO DE LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO	123

LAS LATENCIAS AL INICIO DEL EPISODIO DE LOCOMOCIÓN POST-RASCADO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES RESPECTO AL CONTROL	129
TRAYECTORIAS RECORRIDAS DURANTE LA LOCOMOCIÓN CONTROL Y LA LOCOMOCIÓN POST- RASCADO	132
DISTANCIA, DURACIÓN Y VELOCIDAD DE LA LOCOMOCIÓN CONTROL Y LA LOCOMOCIÓN POST- RASCADO	134
DISTANCIA, DURACIÓN Y VELOCIDAD DE LA LOCOMOCIÓN POST-RASCADO EN MACHOS Y HEMBRAS	138
ANALISIS COMPARATIVO DE LA LATENCIA MEDIDA EN EXPERIMENTOS CONDUCTUALES Y EN EXPERIMENTOS ELECTROFISIOLOGICOS	139
MODELO COMPUTACIONAL	140
X. DISCUSIÓN	149
XI. RESUMEN DE RESULTADOS	179
XII. CONCLUSIONES	183
XIII. BIBLIOGRAFÍA	184

I. LISTA DE ABREVIATURAS

A	Anterior
AC	Corriente alterna
AHL	Área hipotalámica lateral
ARFc	Aferentes del reflejo flexor contralateral
ARFi	Aferentes del reflejo flexor ipsilateral
BPSt	Bíceps Posterior y Semitendinoso
Cad	Cadera
CM	Cuerpo mamilar
C1	Cervical 1
C3	Cervical 3
C5	Cervical 5
C6	Cervical 6
C7	Cervical 7
CI	Colículo inferior
CS	Colículo superior

DC	Corriente directa
E	Fase de apoyo o extensión
Ext	Extensor
E1	Fase extensora 1
E2	Fase extensora 2
E3	Fase extensora 3
EMG	Electromiograma
ENG	Electroneurograma
F	Fase de balanceo o flexión
Flex	Flexor
FDL	Flexor Digitorum Longus
FR	Formación reticular
GCP's	Generadores Centrales de Patrones
GL	Gastrocnemio Lateral
GLi	Gastrocnemio Lateral izquierdo
GLd	Gastrocnemio Lateral derecho

GM	Gastrognemio Medial
GMi	Gastrognemio Medial izquierdo
GMd	Gastrognemio Medial derecho
GP	Generador de patrones
GR	Generador de ritmo
Hz	Hercio
IP	Iliopsoas
kHz	KiloHercios
L4	Lumbar 4
L6	Lumbar 6
L7	Lumbar 7
m	metro
Mflex	Motoneuronas flexoras
Mext	Motoneuronas extensoras
mm	Milímetros
MOhms	MegaOhmios

NaCl	Cloruro de Sodio
NCf	Núcleo Cuneiforme
NF	Núcleo Fastigio
NP	Núcleo Pedúnculo pontino
NR	Núcleo Rojo
NRGC	Núcleo reticular gigante celular
NRMC	Núcleo reticular magno celular
P	Posterior
PDMs	Potenciales sinusoidales del dorso de la médula espinal
PerL	Peroneo Longus
RLM	Región Locomotora Mesencefálica
RLS	Región Locomotora Subtalámica
Rod	Rodilla
S	Segundo
S1	Sacro1
SC	Subcutánea

Sm	Semimembranoso
SN	Sustancia Nigra
St	Semitendinoso
TA	Tibial Anterior
TAd	Tibial Anterior derecho
TAi	Tibial anterior izquierdo
T1	Torácico 1
T3	Torácico 3
T10	Torácico 10
TP	Tracto piramidal
UGR	Unidades Generadoras de Ráfagas
μV	MicroVoltios

II. RESUMEN

Un problema esencial en el estudio del control motor es la comprensión de los mecanismos neuronales por medio de los cuales el sistema nervioso central produce la transición de una actividad motora a otra, ya sea de forma voluntaria o involuntaria. Éste tipo de transiciones entre actividades motoras es complejo; sin embargo, puede ser estudiado de una forma más simple en preparaciones reducidas, tales como las de como animales descerebrados, dentro del contexto del estudio de los generadores centrales de patrones (GCP's) en la médula espinal.

En la presente tesis se analizó por primera vez el fenómeno de locomoción post-rascado. Este fenómeno consiste en la secuencia motora estereotipada de un episodio de rascado seguido de locomoción. El objetivo de éste estudio fue presentar y caracterizar a ésta actividad tanto en el gato intacto como en el gato descerebrado y realizar un análisis comparativo con la locomoción ficticia espontánea. Con base en el análisis de la actividad eléctrica unitaria de interneuronas espinales durante la locomoción post-rascado, concluimos que los Circuitos Generadores de Patrones espinales que producen locomoción y rascado no son los mismos, pero existen elementos que se comparten en ambos circuitos.

Finalmente, proponemos que el análisis de la locomoción post-rascado y de la actividad unitaria de interneuronas es una valiosa herramienta para explorar y explicar la conectividad entre los circuitos generadores de patrones localizados en la médula espinal.

III. INTRODUCCIÓN

CINEMÁTICA Y ACTIVIDAD MUSCULAR DE LAS EXTREMIDADES ANTERIORES Y POSTERIORES DURANTE EL AMBULANTAJE

La locomoción se caracteriza por movimientos rítmicos y alternancia flexora y extensora de las extremidades, cuerpo o apéndices, por ejemplo, caminar, nadar, volar y reptar.

Un considerable número de investigadores han estudiado el patrón de activación muscular y la cinemática durante las diferentes fases de la marcha en el gato (Philippon 1905; Halbertsma, 1983; Engberg y Lundberg, 1969; English, 1978; English, 1987; Drew y Rossignol, 1987; Hoffmann y cols., 1985; Rossignol, 2006). A continuación se describe brevemente los aspectos más sobresalientes de estos patrones.

EXTREMIDAD POSTERIOR

El ciclo de la marcha, en los vertebrados superiores como los gatos, consiste de una secuencia de movimientos de las extremidades en los cuales los cojinetes de la pata de los animales hacen contacto con el suelo por cierto tiempo (E, fase de apoyo o extensión), posteriormente la pata se mueve hacia adelante (F, fase de balanceo). El balanceo comienza con la flexión de todas las articulaciones de la extremidad. Mientras la cadera continua flexionándose, la rodilla y el tobillo se extienden (fase E1) hasta que los cojinetes tocan el suelo, entonces la rodilla, el tobillo y la articulación interfalanges son flexionados (Fase

E2). En la fase E3 todas las articulaciones se extienden para impulsar el cuerpo hacia adelante.

FASE DE APOYO

Los músculos extensores tienen en general patrones similares, estos comienzan su actividad dependiendo de la velocidad de la marcha de 20 a 80 m/s antes del contacto de los cojinetes.

Las tres cabezas del cuádriceps (vasto lateral, intermedio y medial), tienen el mismo patrón extensor, este se produce desde la fase E1 hasta la fase E3.

El recto femoral es un músculo bifuncional que presenta una sola descarga extensora en la fase E1, seguida de un periodo de silencio y otra descarga en E3, particularmente durante el trote.

Los gastrocnemius medial y lateral (GM, GL) se activan durante la fase E2. El flexor digitorum longus (FDL) presenta actividad cuando los dedos todavía no tocan el suelo, provocando una flexión plantar de las falanges, éste muestra actividad algunas veces durante la fase de apoyo. El músculo peroneo longus (PerL) se activa principalmente durante la fase de balanceo; sin embargo, también se ha reportado actividad durante la fase de apoyo.

FASE DE BALANCEO

El músculo sartorio tiene dos porciones anatómicas, una parte anterior que flexiona la cadera y extiende la rodilla y una parte medial que flexiona tanto a la

cadera como a la rodilla. Su actividad ha sido también reportada como una sola ráfaga de actividad electromiográfica que comienza antes de que el pie se separe del piso y casi simultáneamente que el flexor de la cadera ilipsoas (IP).

El músculo semitendinoso es un flexor de la rodilla y extensor de la cadera; presenta una descarga en la fase tardía de E3 y está involucrado en la parte temprana de la flexión cuando la almohadilla es levantada del suelo. El semitendinoso (St) es un sinergista del músculo semimembranoso (Sm). Tanto el St como el Sm presentan actividad variable durante la fase E1, justo antes del contacto del cojinete con el suelo, esto se presenta principalmente a altas velocidades y podría estar relacionado con la desaceleración de la cadera y la rodilla al final de la fase de balanceo para preparar el contacto de las almohadillas (Figura 1).

EXTREMIDAD ANTERIOR

El ciclo de la marcha en el miembro anterior también ha sido subdividido en fases de apoyo y balanceo, sin embargo es más complejo ya que se le agrega el movimiento de la escápula en relación a la caja torácica.

Funcionalmente la escápula es homóloga al fémur, el húmero a la pantorrilla, el radio-ulnar al pie, y la muñeca a la articulación metatarso-falanges. Dado que el gato es aclavicular, la escápula está unida al tórax y a la columna vertebral únicamente a través de músculos.

Durante la fase de balanceo de la locomoción, la escápula se rota, lo que hace que la cavidad gleinoidea se mueva unos centímetros hacia adelante, además durante la fase F del balanceo, el codo y el hombro se flexionan y la muñeca se flexiona en dirección plantar.

Durante la fase de flexión E1, mientras el hombro y el codo se siguen extendiendo, la muñeca se dorsoflexiona y al final de la fase E2 la muñeca se flexiona nuevamente en dirección plantar y mantiene un ángulo de aproximadamente 200°. Los músculos de la escápula tienen un papel clave en la fase de apoyo, ya que soportan el peso del animal. Los músculos pectorales, que unen al húmero con el esternón, y el músculo latissimus dorsi, que une al húmero con las vertebras, mueven el hombro mientras jalan el húmero durante la fase de apoyo.

Los músculos supraespinoso, infraespinoso y escapular están activos durante la fase de apoyo principalmente. El deltoides tiene actividad tanto en la fase de balanceo como de apoyo. El tríceps tiene una descarga que comienza antes del contacto de las almohadillas con el piso.

Los electromiogramas (EMG) de los músculos braquiales, bíceps braquial y cleidobraquial comienzan su actividad antes de que los cojinetes se separen del piso y terminan antes del contacto con el piso.

Los músculos extensor carpi radialis y extensor digitorum communis, que dorsiflexionan la muñeca y las falanges tienen dos picos de actividad asociados al contacto de las falanges al piso y a su separación del mismo (Figura 2).

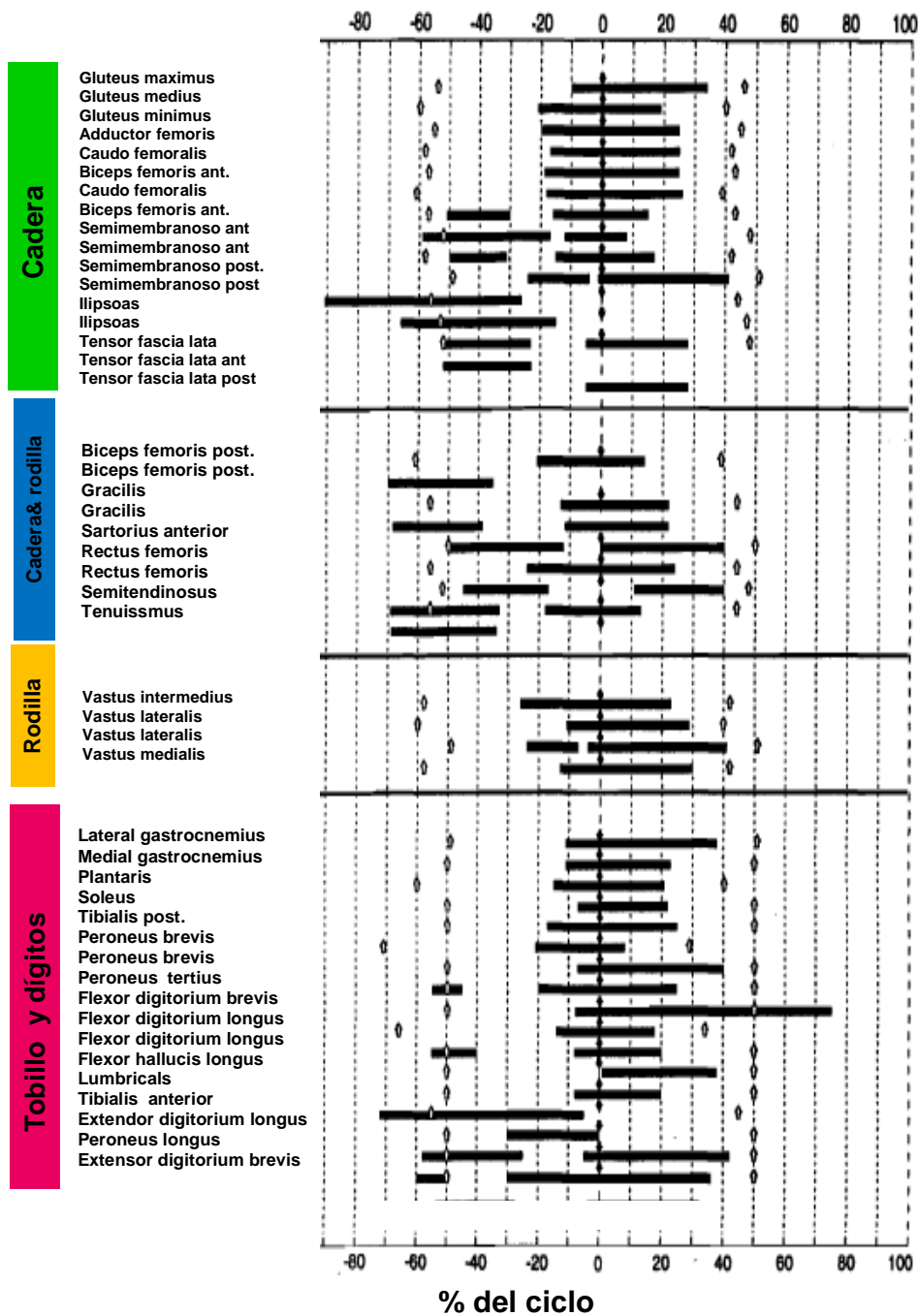


Figura 1. Diagrama de barras de la actividad de los músculos de la extremidad posterior durante el trote. El ciclo está normalizado de acuerdo al contacto de la extremidad con el piso (tomado de Rossignol, 1996).

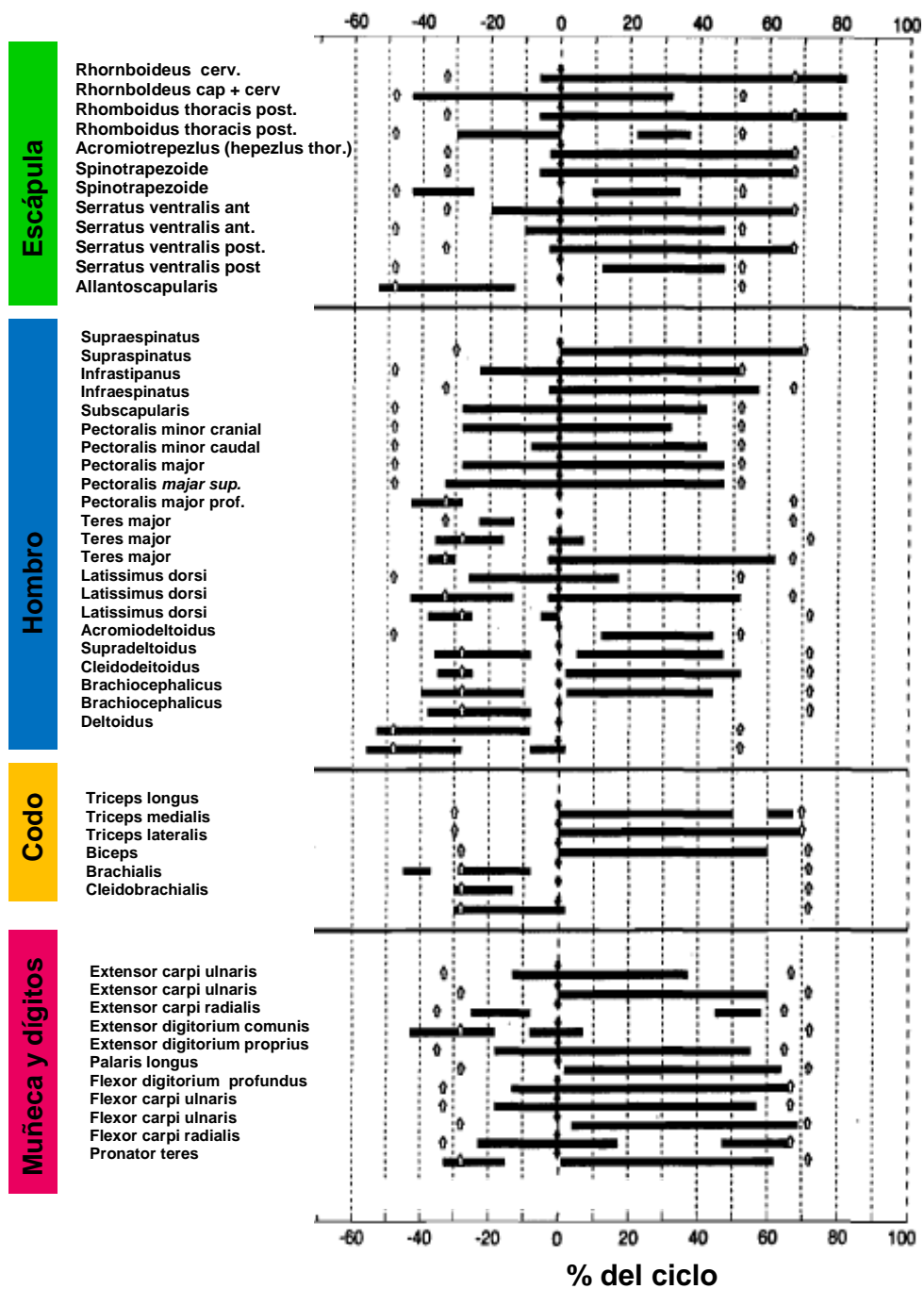


Figura 2. Diagrama de barras de la actividad de los músculos de la extremidad anterior durante la marcha. El ciclo está normalizado de acuerdo al contacto de la extremidad con el piso (tomado de Rossignol, 1996).

PREPARACION PARA EL ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA: DESCEREBRACIÓN PRECOLICULAR-PREMAMILAR

Desde inicios del siglo pasado la descerebración comenzó a usarse para el estudio de la locomoción y de los reflejos espinales (Sherrington, 1989, Sherrington 1910, Woodworth y Sherrington 1904). Sherrington en 1910 describió que cuando se hace una sección completa de la médula espinal, los animales presentan inicialmente una parálisis de los miembros posteriores, pero éstos mantienen la habilidad de hacer movimientos flexores y extensores. En este mismo trabajo, Sherrington (1910) encontró que si se descerebra a un animal, éste presentará tono muscular, cuello y cola levantadas, espalda y cabeza en posición horizontal y además hará movimientos flexores y extensores.

Los animales descerebrados son capaces de presentar locomoción si el tallo encefálico no se corta a un nivel muy caudal. Un animal descerebrado a nivel intercolicular no exhibe movimientos después de la cirugía, sin embargo, es capaz de caminar y presentar reflejos espinales después de dos o tres semanas (Sherrington, 1910).

La descerebración puede realizarse a diferentes niveles del encéfalo, por ejemplo, si se hace un corte que pasa por delante de los colículos superiores hasta detrás de los cuerpos mamilares, la descerebración entonces se conoce como precolicular-postmamilar. Si se realiza este tipo de descerebración, el animal no presenta locomoción en una preparación aguda. Sin embargo, la locomoción se puede producir si se estimula la Región Locomotora Mesencefálica (RLM, ver

Figura 3) de forma química o eléctrica (20- 60 Hz, 20-100 μ A). Si la intensidad del estímulo es incrementada, la velocidad y forma de la locomoción puede ser modificada de una caminata lenta a trote. Entonces, un tipo simple de estímulo puede provocar y controlar un patrón complejo de comportamiento que involucra coordinación continua de los cuatro miembros y un gran número de músculos y articulaciones (Shik y cols, 1969, Shik y Orlovsky, 1976).

En otro tipo de descerebración, el corte es realizado desde la parte rostral del colículo superior hasta por enfrente de los cuerpos mamilares (ver Figura 3), entonces a la preparación se le conoce como precolicular-premamilar (Shik y Orlovsky, 1976).

Sirota y Shik en 1973 estudiaron que la destrucción de la RLM no inhibe el inicio de la locomoción voluntaria, refleja o por la estimulación de la RLS. En contraste, la destrucción de la RLS suprime la capacidad de iniciar locomoción voluntaria, pero esta se puede inducir por la estimulación de la RLM. La forma en que estas regiones interactúan para el control normal de la locomoción es aún desconocida (Orlovsky y cols., 1999).

La descerebración usada en el presente trabajo de tesis fue la precolicular-premamilar. Además, a ésta preparación se le puede administrar un paralizante (un inhibidor competitivo de la acetil colina) y registrar la actividad de nervios flexores y extensores. Cuando la locomoción se lleva a cabo de ésta forma se le conoce como locomoción ficticia. Los nervios motores flexores y extensores tienen

actividad alternada, pero no se observa ningún movimiento (revisado en Orlovsky, 1999).

Cuando el animal es descerebrado a nivel precolicular-premamilar, dos regiones relacionadas con el inicio de la locomoción permanecen intactas: la región locomotora mesencéfala (RLM) y la región locomotora subtalámica (RLS), estas dos estructuras proyectan a la formación reticular (Orlovsky, 1999; Figura 3A, 3B y 4).

La región locomotora mesencéfala, que corresponde al núcleo cuneiforme (NCf) y al núcleo pedúnculo pontino (NP), tiene una dimensión de aproximadamente 1 mm (Mori, 1987). La estimulación eléctrica de la RLS y la RLM producen locomoción tanto en gatos descerebrados como intactos. Además, en este último caso, el movimiento es bien coordinado (Mori y cols., 1989; Mori, 1987; Orlovsky, 1999). Asimismo, el núcleo fastigio del cerebelo (NF, Figura 3A) proyecta a un área grande en la formación reticular (FR). La estimulación de éste núcleo produce locomoción en el gato descerebrado con patrones muy similares a los producidos por la estimulación de la RLM (Mori y cols., 1999).

Por otra parte, se ha encontrado que tanto la RLM recibe entradas aferentes de los ganglios basales, específicamente de la sustancia nigra y del pálido ventral y éstas entradas son gabaérgicas inhibitorias (Figura 4). Se ha propuesto que la RLM está normalmente controlada por éstas estructuras inhibitorias y que el inicio de la marcha se debe a un proceso de desinhibición (Jordan, 1998, Grillner y cols, 1997).

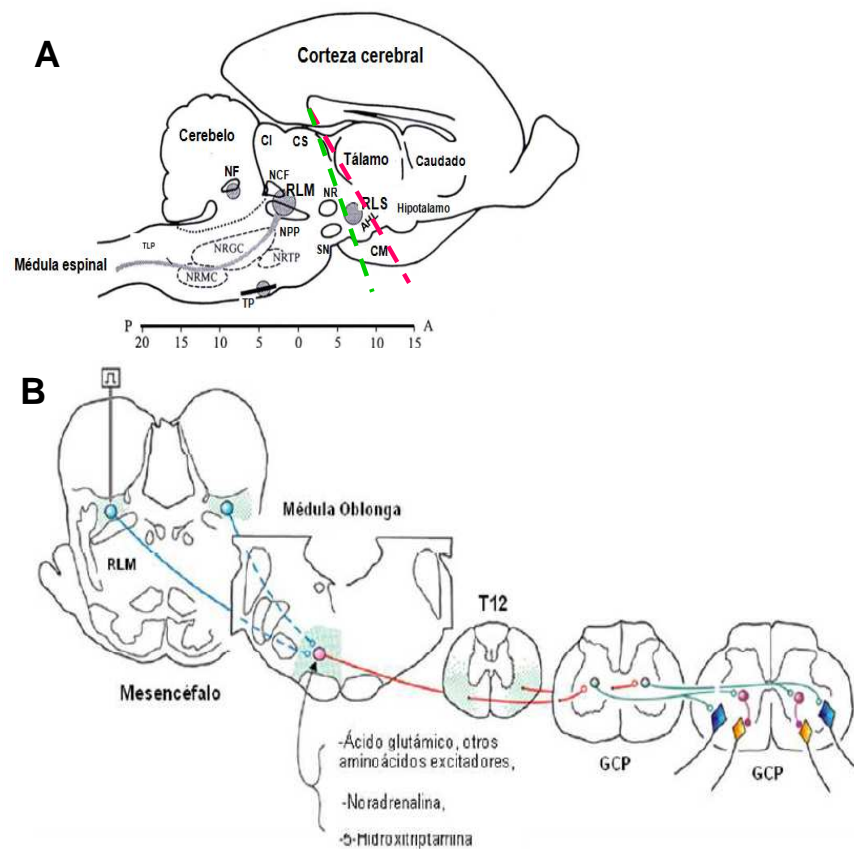


Figura 3. A) Localización de la región locomotora mesencefálica (RLM) y la región locomotora subtalámica (RLS). La línea mangeta indica el corte precolicular-premamilar y la línea verde indica el corte precolicular-post-mamilar. En la parte inferior se muestran las coordenadas de Horsley-Clark. (Tomado de Orlovsky y cols., 1999). **B)** Representación esquemática de áreas locomotoras y vías descendentes del tallo cerebral y espinales. Los círculos azules representan neuronas de la RLM, los círculos rojos son neuronas de la vía retículoespinal, además se indican los neurotransmisores involucrados en esta vía. En la médula espinal se representan las motoneuronas en azul y amarillo y las interneuronas pertenecientes al GCP en rosa y azul, (Tomado de Jordan, 2008). A, anterior; P, posterior; AHL, área hipotalámica lateral; CM, cuerpo mamilar; CI, colículo inferior; CS, colículo superior; NCF, núcleo cuneiforme; NPP, núcleo pedúnculo-pontino; NF, núcleo fastigio; NRG, núcleo reticular gigante celular; NRMC, núcleo reticular magno celular; NRTP, núcleo reticular tegmenti pontis; TLP, tirilla locomotora pontomedular; TP, tracto piramidal; NR, núcleo rojo; SN, sustancia nigra.

Las células de la RLS están localizadas en el hipotálamo lateral y reciben proyecciones gabaérgicas del pálido ventral, que a su vez recibe proyecciones inhibitorias de las neuronas estriatales. (Grillner y cols, 1997, Figura 4).

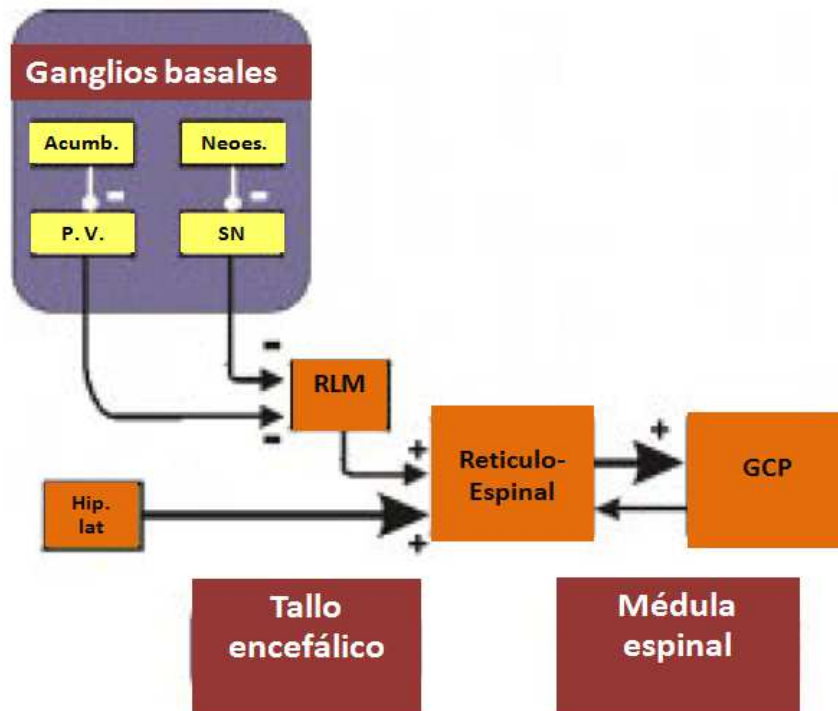


Figura 4. Estructuras encefálicas relacionadas con el inicio de la locomoción. Los ganglios basales están incluidos en el cuadro morado. Acumb, núcleo Acumbens; P.V., Pálido Ventral; Neoes., Neostriatum, SN, Sustancia Nigra Pars Reticulata. El control descendente de la Región Locomotora Mesencéfala (RLM) activa a neuronas retículo-espinales, que a su vez activan al Generador Central de Patrones espinal (GCP). Las neuronas reticuloespinales pueden ser activadas por una proyección directa del hipotálamo lateral (Hip. Lat)

TRACTOS ASCENDENTES Y DESCENDENTES RELACIONADOS CON LA LOCOMOCIÓN

A) Tracto Reticuloespinal Bulbar o Lateral.

Este se origina en el campo tegmental medial del bulbo raquídeo y desciende bilateralmente a través de los funículos ventrolaterales. A través de interneuronas locales ejerce acciones excitatorias sobre motoneuronas alfa y gamma flexoras e inhibitorias sobre motoneuronas de músculos flexores (Orlovsky y cols., 1999; Grillner y cols. 1997).

B) Tracto Reticuloespinal Pontino o Medial.

Se origina en los núcleos reticulares Pontis Oralis y Pontis Caudalis. El tracto Reticuloespinal Pontino desciende ipsilateralmente a través del funículo ventral y termina en el asta ventral, muy cerca del tracto vestibuloespinal. Además, a través de interneuronas excita a motoneuronas extensoras (Grillner y cols. 1997).

C) Tracto vestibuloespinal.

El tracto vestibuloespinal desciende ipsilateralmente por el funículo ventral y se ramifica en la porción media del asta dorsal a lo largo de toda la médula espinal, Éste tracto se origina en el núcleo de Deiters ó núcleo Vestibular, el cual está localizado en el puente. Cuando este núcleo es estimulado el principal efecto que ejerce es la excitación de motoneuronas extensoras, es

decir, más del 70% de las neuronas descargan en fase con las motoneuronas extensoras y el resto lo hace de forma tónica (Mori, 1999).

D) Tracto Rubroespinal.

El tracto Rubroespinal se origina en el núcleo rojo, este se localiza en la parte ventro-medial del tegmento mesencefálico. El tracto rubroespinal cruza la línea media a nivel del núcleo rojo y desciende a través del funículo lateral hasta el asta dorsal, en las láminas V, VI y VII. Experimentos realizados en gatos han demostrado que el principal efecto de la estimulación del núcleo rojo es la activación de motoneuronas flexoras contralaterales, aunque una pequeña cantidad de motoneuronas extensoras también pueden ser activadas. Además, el núcleo Interpositus del cerebelo modula rítmicamente la actividad del núcleo rojo (Revidado en Orlovsky, 1999).

E) Tracto Espino-Cerebeloso Dorsal y Ventral.

Durante la locomoción y el rascado, el cerebelo recibe dos tipos de señales desde la médula espinal. Primero, señales sobre el generador de ritmo a través del tracto Espino-Cerebeloso ventral y, además, señales sobre los movimientos de las extremidades a través del tracto Espino-Cerebeloso dorsal. Las señales de salida del cerebelo causan una modulación rítmica de las neuronas vestibuloespinales, rubroespinales y reticuloespinales. Es importante mencionar que el tracto Espino-Cerebeloso dorsal asciende a través de la porción dorsal del funículo lateral (Archavsky, 1972d,e).

EL REFLEJO DEL RASCADO

El rascado es una respuesta refleja en donde una de las extremidades se acerca al sitio donde se encuentra cierto estímulo para que a través de movimientos alternados de flexión y extensión dicho estímulo sea retirado (Carlson-Kuhta y Smith, 1990). El rascado es generado por la activación de mecanorreceptores en la piel (Stein, 1983, Deliagina y cols, 1983).

La necesidad de coordinar los movimientos de la extremidad con el contacto con la cabeza es una diferencia entre el rascado en el gato y otros mamíferos como las ratas, perros y humanos (Giszter y cols. 1989).

El reflejo del rascado está conservado en la escala filogenética desde los anfibios (Berkinblity cols, 1984). El rascado presenta dos componentes, el primero consiste en el acercamiento de una de las extremidades posteriores hacia la cabeza, cuello y tronco (componente tónico). El segundo componente se denomina componente cíclico, éste se caracteriza por la actividad rítmica alternada flexora y extensora a una frecuencia de 3 a 4 Hz (Carlson y Smith, 1990; Deliagina y cols., 1975).

Durante la fase de acercamiento, las articulaciones de la cadera, del tobillo y de la rodilla son flexionadas, debido a ésta flexión, la extremidad ipsilateral es dirigida hacia el sitio donde se encuentra el estímulo. El componente cíclico continúa de forma inmediata después de la fase de aproximación, Durante éste último componente se presenta un desplazamiento angular de las tres articulaciones. Durante ésta fase, la trayectoria de la extremidad se mueve en

forma circular. Asimismo, la fase está dividida en precontacto, contacto y post-contacto. La fase de contacto ocupa aproximadamente el 50% del ciclo y se caracteriza por actividad extensora de las articulaciones de la cadera, rodilla y tobillo. La fase post-contacto constituye aproximadamente el 24% del ciclo e inicia con la flexión de la rodilla. Finalmente cuando la fase cíclica concluye, la extremidad y la cabeza regresan a su postura original (Carlson y Smith, 1990, ver figura 5).

El reflejo del rascado puede ser producido después de descerebrar y deaferentar a un animal (Sherrington, 1906, Sherrington, 1910). Cuando se realiza una deaferentación en la preparación, las características del rascado permanecen con algunas alteraciones y ciertas irregularidades (Berkinblit y cols, 1978). Los resultados anteriores indican que la médula espinal posee los circuitos neuronales necesarios para generar dicha actividad rítmica.

Feldberg y Fleischhauer (1960) describieron que es posible facilitar el reflejo del rascado si se aplican tópicamente sustancias como el bromofenol o el curare sobre la superficie de los segmentos cervicales (C1-C2) de la médula espinal. En dicho trabajo se determinó que la aplicación de estas sustancias produce un patrón de activación muscular alternante de flexión y extensión que corresponde al reflejo del rascado.

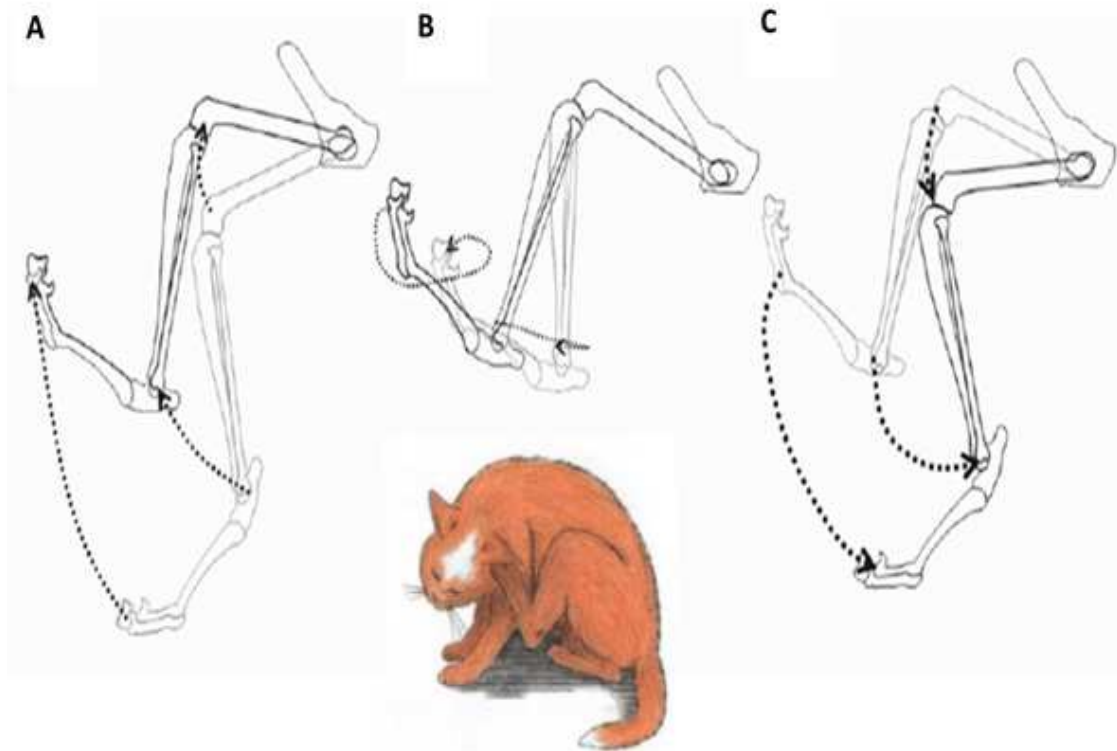


Figura 5. Representación de los movimientos de la extremidad del gato durante el rascado en A) la fase de aproximación, B) la fase cíclica y C) la fase de retirada (Modificado de Carlson y Smith, 1990).

El curare (D-tubocurarina) es sintetizado a partir de una planta llamada *Chondrodendron tomentosum* (King, 1940). El mecanismo de acción por el cual produce rascado no está bien determinado. Sin embargo, se asume que actúa sobre las sinapsis de las vías aferentes del quinto par craneal, a nivel de los segmentos C1 y C2 (Domer y Feldberg, 1960).

Además el rascado ficticio puede ser estudiado en la preparación de gato deaferentado y paralizado con bloqueadores neuromusculares para evitar la activación de aferentes primarias. En ésta preparación la fase flexora del rascado tiene una duración de alrededor de 200 ms mientras que la fase extensora es más corta, con una duración de alrededor de 50 ms (Deliagina y cols., 1975; Berkinblit y cols., 1978).

EL GENERADOR CENTRAL DE PATRONES

Los generadores centrales de patrones (GCP) son redes neuronales localizadas en la médula espinal, que controlan actividades rítmicas, por ejemplo, la locomoción y el rascado. Sherrington (1906, 1909, 1910), describió que ciertos reflejos que se producen en animales intactos, también se producen en animales espinalizados. Además, describió que un cierto tiempo después de la espinalización, la capacidad de ejecutar algunos movimientos flexores y extensores se recupera. Esto sucede después de semanas o meses, por lo tanto, los miembros posteriores sostienen el cuerpo de animal y son capaces de mantener la posición de extensión. Si estos mismos experimentos son reproducidos en un animal descerebrado, este presentará tono muscular, cuello y cola levantadas, así como movimientos de flexión y extensión (Sherrington, 1910).

Graham Brown (1911) demostró que el patrón básico de locomoción es producido por redes neuronales que se encuentran en la médula espinal en ausencia de retroalimentación aferente y entradas supraespinales. La evidencia

experimental que apoya una organización de tipo hemicentro fue provista por Jankowska y cols. (1967).

Grillner y Zagger (1979) estudiaron la distribución rostro-caudal de la capacidad ritmogénica de la médula espinal a niveles lumbares y sacros. Dichos experimentos fueron realizados en gatos tratados con L-Dopa y nialamida. Ellos encontraron que la capacidad ritmogénica de la médula espinal se mantiene únicamente si los segmentos L6, L7 y S1 están intactos (Figura 6).



Figura 6. Actividad flexora y extensora después de la espinalización de un gato en el segmento L5 (Modificado de Grillner y Zagger, 1979). TA, tibial anterior, GL, gastrocnemio lateral.

Kiehn y Kjaerulf (1996) proponen, a través de sus experimentos en la rata que la generación de ritmo no está restringida a un segmento, sino se extiende a lo largo de diferentes segmentos lumbares y torácicos. Similares resultados han sido reportados por otros autores (Cowley y Schmit, 1997, Bonnot y cols, 2002; Christie y Whelan, 2005).

Bonnot y cols. (2002) describen que existe un patrón de activación de las motoneuronas en secuencia rostrocaudal. En la rata los resultados son homólogos a los encontrados en el ratón (Falgaroille y Cazalets, 2007). Esta activación rostrocaudal también ha sido observada en el gato y coincide con la localización anatómica que los grupos de motoneuronas en la médula espinal que inervan a los músculos de las extremidades (Yakovenko y cols., 2002), resultados similares han sido encontrados en el humano (Ivanenko y cols., 2006).

Además, existe una diferencia entre la capacidad ritmogénica de los segmentos rostrales y caudales. Los segmentos lumbares rostrales tienen mayor capacidad de generar patrones motores que los segmentos caudales. Lo anterior sugiere que la capacidad ritmogénica del GCP relacionados con los miembros posteriores está distribuida a lo largo de la médula espinal lumbar, pero con un gradiente de excitabilidad rostro-caudal. Aunque se ha propuesto que un mayor número de entradas sinápticas hacia los segmentos rostrales podría ser la causa de este gradiente (Kiehn, 2006).

Es importante mencionar que la mayoría de los estudios se ha concentrado en el GCP relacionado con los miembros posteriores y pocos trabajos han hecho referencia al GCP cervical, sin embargo, estos trabajos presentan evidencia que sugiere que el GCP cervical existe y puede generar movimientos rítmicos (en Gordon y cols., 2008).

Ballion y cols. (2001), describieron que en la rata neonata (Figura 7A) existen descargas en los segmentos C3-T1, si se hace una lesión entre los

segmentos C6 y C7 no se abole la actividad rítmica en C7-T1. Además los segmentos T3-T10 no exhiben éste tipo de actividad. En esta preparación también se ha sugerido que el GCP cervical es capaz de producir patrones rítmicos en ausencia de entradas provenientes de segmentos lumbares, sin embargo, estas entradas contribuyen al ritmo y patrón de descarga a nivel cervical (Gordon y cols., 2008).

Asimismo, se ha estudiado la localización de interneuronas rítmicamente activas en el ensanchamiento cervical de la médula espinal (Figura 7B). Se registraron interneuronas asociadas a la fase flexora de la marcha en los segmentos C5 y C6 en las láminas de Rexed V y VI e interneuronas asociadas a la extensión los segmentos C7-T1 en láminas VI a VII (Yamagushi, 1992). Además, en la rata neonata, se ha determinado que las vías propioespinales contribuyen a la activación de la red locomotora cuando el tallo encefálico es estimulado (Zaporozhets y cols. 2006).

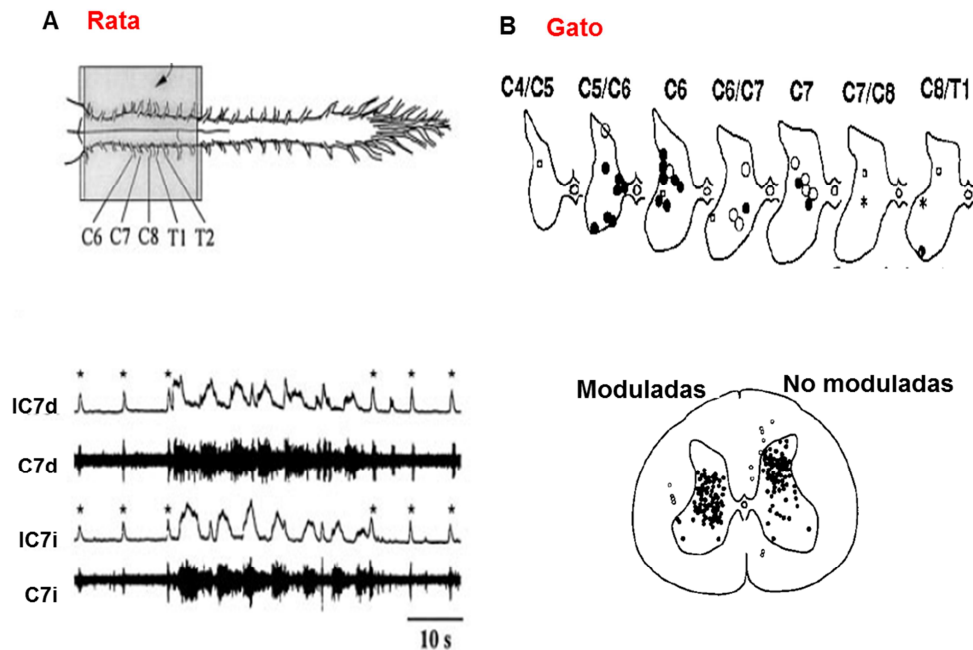


Figura 7. A) Diagrama de registro de la médula espinal cervical en la rata neonata y registro de las raíces ventrales en el segmento espinal C7 (Modificada de Ballion y cols., 2001). B) Localización de interneuronas rítmicamente activas en el ensanchamiento lumbar (C4-T1). Panel inferior, comparación entre la localización de las interneuronas rítmicamente activas y las no moduladas durante la locomoción en el gato (Modificada de Yamagushi, 1992). IC7d, IC7i, registro integrado en el segmento cervical 7 derecho e izquierdo; C7d, C7di, cervical 7 derecho e izquierdo.

Orlovsky y Feldman (1972) estudiaron, por primera vez, la descarga de interneuronas espinales durante la locomoción producida por la estimulación de la región locomotora mesencefálica (RLM). Estos autores encontraron que después de deaferentear a los gatos, aproximadamente de dos tercios de las

interneuronas registradas en el núcleo intermedio se modulaban en fase. Concluyeron entonces que éstas interneuronas formaban parte del GCP.

Otras técnicas han permitido la visualización de las interneuronas activas durante la locomoción ficticia espontánea y por estimulación de la RLM; se ha determinado que tales interneuronas se localizan principalmente en los segmentos L6 y L7 y en las láminas III a VII y X (Dai y cols., 2005). Resultados similares se han encontrado durante el rascado (Tapia, 2009). Asimismo, en el conejo se ha determinado que son estos mismos segmentos y láminas en donde existe el mayor marcaje de interneuronas (Viala y cols., 1988).

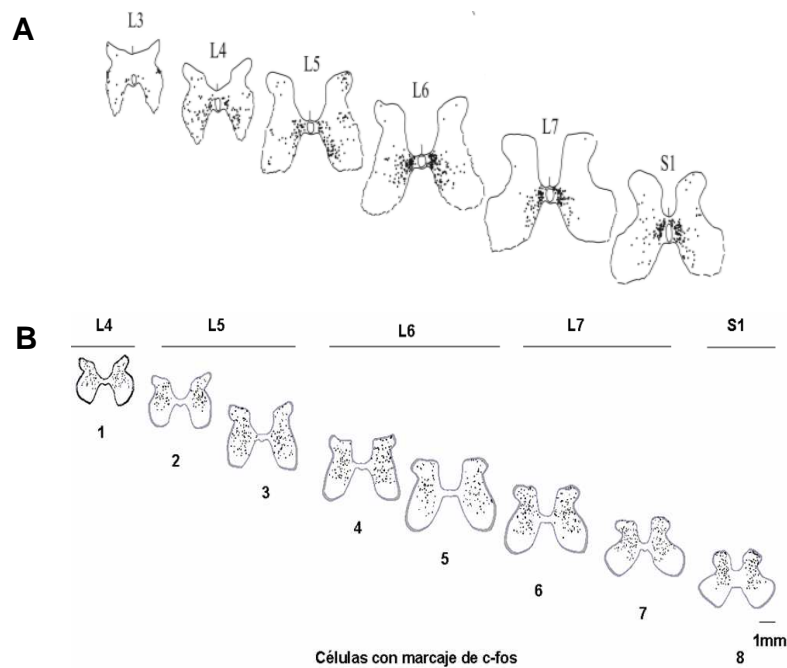


Figura 8. Marcaje de interneuronas activas por medio de la técnica de C-Fos durante la A) locomoción (Tomada de Dai y cols., 2005) y B) rascado ficticio (Tomada de Tapia, 2009).

En la rata neonata, por medio del marcaje con suldonamida, se ha encontrado el mayor marcaje de interneuronas durante la actividad locomotora en el núcleo intermedio y en la lámina X (Kjaerulff y cols., 1994).

O'Donovan y cols (1995), usaron marcadores de calcio para visualizar las células rítmicamente activas en la médula espinal del embrión de pollo. Durante la actividad rítmica espontánea se encontraron que las células activas están predominantemente en la parte ventral comparada con la dorsal.

Orlovsky y Felman (1972) y Berkinblit y cols. (1978) realizaron registros unitarios de interneuronas durante la locomoción y el rascado respectivamente. En ambos trabajos se encontró que el mayor número de interneuronas rítmicamente activas se localiza en las partes laterales e intermedias de la sustancia gris, principalmente en las láminas V-VIII (Figura 9A, 9B). Además Berkinblit y cols (1978) también determinaron que los segmentos espinales L4-S1 es donde se encuentra un mayor número de interneuronas asociadas al rascado.

Noga y cols. (1995) sugirieron que las poblaciones de neuronas que forman diferentes componentes de la circuitería locomotora, tales como la excitación de las motoneuronas extensoras y flexoras, coordinación entre miembro, etc., reciben entradas sinápticas de la región locomotora mesencefálica y están distribuidas en las láminas VI a X de los segmentos lumbares de la médula espinal (Figura 9C).

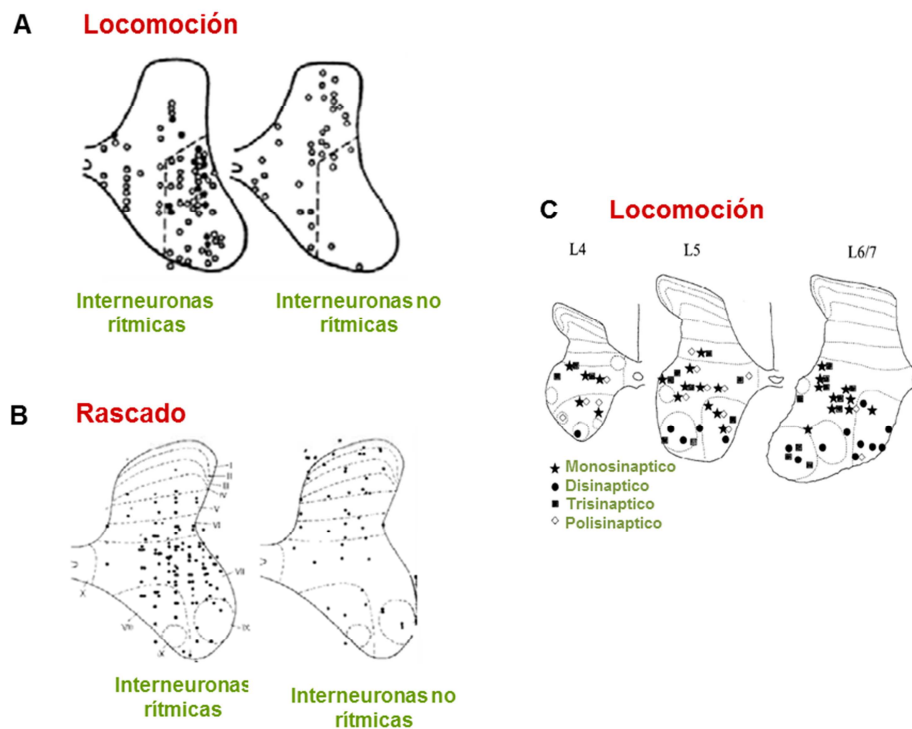


Figura 9. Localización de interneuronas rítmicas y no rítmicas registradas durante A) la locomoción (Modificado de Orlovsky y Feldman, 1972) y B) el rascado (Modificado de Berkinblit y cols., 1978). C) Distribución de potenciales provocados por la estimulación de la RLM (Modificado de Noga y cols., 1995).

Berkinblit y cols. (1978) clasificaron a las interneuronas activas durante el rascado en interneuronas que se activan durante el inicio, la fase intermedia y al final del ciclo de rascado. El primer tipo de interneuronas pueden responder con una alta frecuencia incluso durante la fase tónica del rascado. El segundo tipo de interneuronas tienen menor actividad durante la fase inicial del rascado, pero tienen mayor actividad en la fase intermedia, aunque sus ráfagas son de corta

duración, su actividad no se correlaciona ni con la actividad flexora ni con la extensora y no forman parte de una población homogénea. El tercer tipo de interneuronas disparan al final del ciclo del rascado y sus ráfagas son de corta duración. En los tres casos, si el rascado es de mayor intensidad, las interneuronas disparan con mayor frecuencia y duración

EL GENERADOR CENTRAL DE PATRONES DE LA LOCOMOCIÓN Y DEL RASCADO

El rascado es una actividad rítmica cuyo objetivo es usar una porción de la extremidad para remover una sensación irritante de la parte del cuerpo que ha recibido un estímulo (Mortin y cols, 1985). Por otra parte, la locomoción es una actividad rítmica cuyo objetivo es mover el centro de masa del cuerpo de un lugar a otro. Los GCPs determinan las secuencias de activación de los músculos que sean adecuadas para desplazar las articulaciones de las extremidades para la consecución de las zancadas (Grillner, 2006). Diversos estudios de patrones motores muestran que en ambas tareas, la locomoción y el rascado, existen propiedades que se comparten, tales como la alternancia rítmica entre músculos flexores y extensores (Stein 2005).

Como se mencionó anteriormente, diversos movimientos rítmicos en los vertebrados, tales como el nado, rascado y la marcha son producidos en el sistema nervioso central por los generadores centrales de patrones (Grillner, 1981).

Una hipótesis sobre los circuitos espinales generadores de patrón es que están constituidos por interneuronas que se comparten y que están involucradas en la generación de diferentes actividades rítmicas (Stein, 2005). Diversas investigaciones en modelos animales simples apoyan a ésta hipótesis. Por ejemplo, se ha encontrado que tipos específicos de interneuronas activas durante el nado, también son activados durante la actividad de escape/forcejeo (Figura 10B). Además, otros dos tipos de interneuronas son reclutadas durante la segunda tarea motora (Li y cols., 2007; Frigon 2009). También se ha evidenciado los elementos necesarios para diferentes formas de rascado en la tortuga se encuentran distribuidos en los mismos segmentos espinales (Lawrence y cols., 1989).

Usando registros unitarios, se encontraron interneuronas activas durante diferentes formas de rascado. Asimismo, hay interneuronas que están activas durante tres formas diferentes de rascado y además durante el nado en la tortuga (Figura 10A). En particular, se encontró que algunas de estas interneuronas están activas durante la misma fase de rascado y de nado, mientras que otras se activan durante el rascado, pero no durante el nado (Berkowitz y Stein 1994, Berkowitz 2001a,b; Berkowitz 2002; Berkowitz 2008).

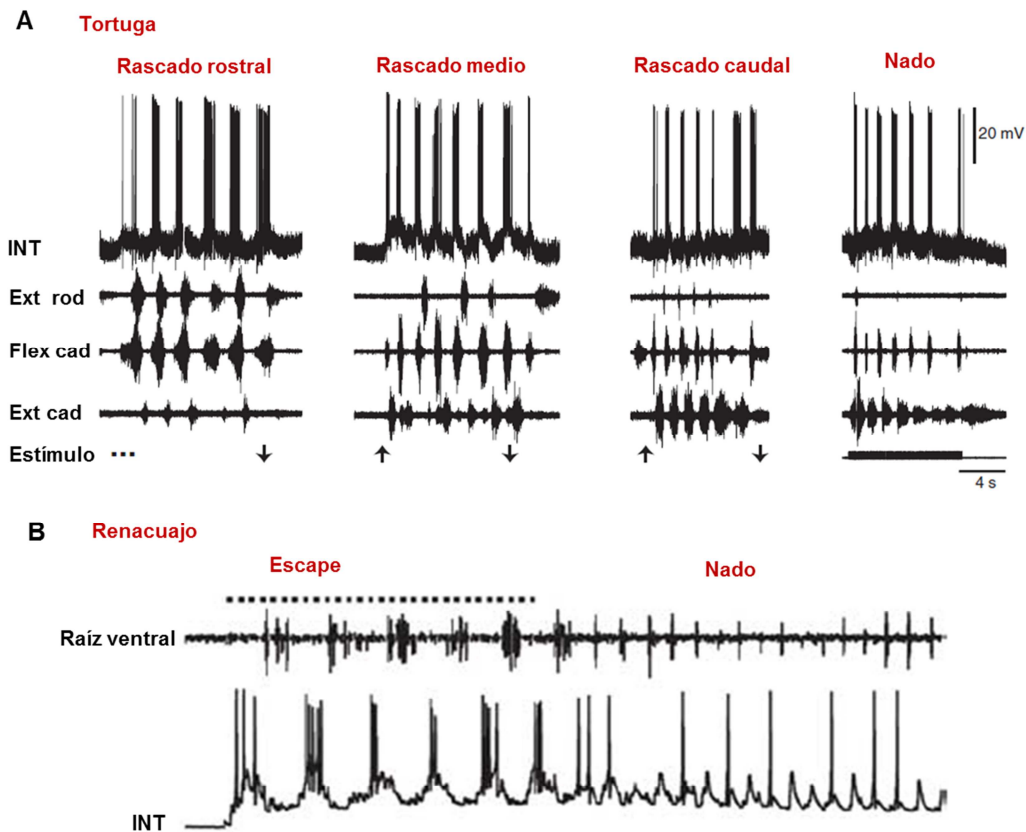


Figura 10. A) Activación rítmica de una interneurona durante el tres formas de rascado y el nado ficticio en la tortuga (Modificado de Berkowitz, 2008). B) Interneuroma (INT) activa durante el escape y el nado en el renacuajo (Modificada de Li y cols., 2007). Ext rod, nervio extensor de la rodilla; flex cad, nervio flexor de la cadera; ext cad, nervio extensor de la cadera.

Perreault y cols., (1999) demostraron que las vías reflejas responsables de la extensión oligosináptica grupo I pueden ser activadas tanto durante rascado ficticio como durante el soporte del cuerpo, por ejemplo, la actividad motora que se

produce durante el rascado contralateral. Estos autores sugieren que existe una semejanza en los efectos de las entradas aferentes extensoras del grupo I en rascado y en locomoción, lo que apoya a la hipótesis de que ambos ritmos motores son producidos por una red común. Esta evidencia puede ser corroborada en otros trabajos de la literatura que indican que las interneuronas inhibitorias se activan rítmicamente durante el rascado (Deliagina y Orlovsky 1980; Deliagina y Feldman 1981) o durante la locomoción (Feldman y Orlovsky 1975; McCrea y cols. 1980; Pratt y Jordan 1987). Estos trabajos apoyan la hipótesis de que ambos GCPs comparten las mismas interneuronas inhibitorias durante su activación rítmica. Recientemente, esta hipótesis ha sido demostrada por medio del registro directo de interneuronas inhibitorias durante rascado y locomoción. Geertsen y cols. (2011) demostraron y confirmaron que por lo menos algunas interneuronas inhibitorias se activan rítmicamente durante el rascado y la locomoción en el gato. Sin embargo, no todas las interneuronas que generan al rascado y a la locomoción se comparten. Existe evidencia de que en el gato existe una regulación diferente del ciclo, duración de fase y transición de fase cuando se compara al rascado con la locomoción, lo que sugiere mecanismos generadores de ritmo para cada tarea motora (Frigon y Gossard, 2010; Gossard y cols., 2011).

Una revisión profunda de la literatura en este contexto indica que la hipótesis de que los GCPs comparten elementos en común ha sido explorada en una variedad de tareas motoras como la marcha, el vuelo, nado, escape y forcejeo, en diferentes especies animales. Por ejemplo, registros intracelulares en mostraron que las interneuronas que se activan tanto en nado como en rascado

tienen arborizaciones en el asta ventral de la médula espinal, lo que sugiere que pertenecen a ambos GCPs (Berkowitz, 2008).

Otros trabajos apoyan la idea de reconfiguración de redes y de neuronas multifuncionales durante diferentes tareas rítmicas (Briggman y Kristan, 2006; Weimann y Marder, 1994; Meyrand y cols, 1991; Jing y Weiss 1992; Pospescu y Frost, 2002). En el pez cebra en estado larvario, existen cuatro tipos diferentes de interneuronas glicinérgicas inhibitorias que se encuentran activas durante el nado, el escape y el forcejeo (Liao and Fetcho, 2008). Usando imágenes de calcio, se encontró que dos grupos diferentes de interneuronas comandan el nado y el escape (Ritter y cols., 2001). En este contexto, Ramirez y Pearson (1988) describieron que el insecto palo tiene ciertas motoneuronas, que inervan músculos bifuncionales y que están activas durante la caminata y el vuelo. Sin embargo, estos patrones son producidos por dos redes interneuronales: todas las interneuronas activas durante el vuelo están activas o tónicamente inhibidas durante la caminata, y todas las interneuronas que están moduladas durante la caminata están inactivas, inhibidas o débilmente moduladas durante el vuelo.

MODELOS DEL GENERADOR CENTRAL DE PATRONES

Brown (1911) demostró que después de la sección transversal de la médula espinal a nivel torácico en un animal con las raíces dorsales previamente seccionadas la alternancia rítmica motora en músculos antagonistas en cada miembro posterior puede ser generada por un período corto. Con base en estos

experimentos concluyó que la médula espinal del gato es la que genera ritmo locomotor, en ausencia de estímulos de vías supraespinales y retroalimentación aferente; por lo que propuso el término factor intrínseco para describir al generador de ritmo en la médula espinal.

En 1914 Graham Brown propuso el primer esquema de un generador central de patrones, el cual estaba basado en el concepto de hemicentro. De acuerdo a este concepto, el ritmo locomotor resulta de la interacción de dos poblaciones de interneuronas excitatorias conocidas como hemicentros y la inhibición recíproca entre ellos. Cada hemicentro excita a motoneuronas sinergistas y activa a interneuronas que inhiben a interneuronas antagonistas. De acuerdo a este modelo, esta red controla el ritmo y patrón de la actividad de las motoneuronas durante la locomoción (figura 11A).

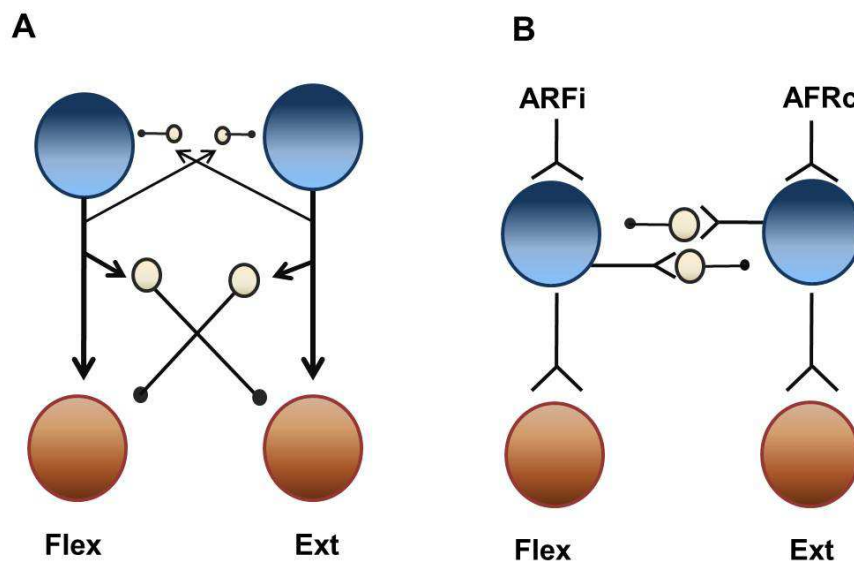


Figura 11. A) Representación esquemática del modelo de hemicentro propuesto por Brown. Las líneas representan conexiones excitatorias e inhibitorias. Los círculos azules representan dos poblaciones de interneuronas generadoras de ritmo interconectadas por inhibición recíproca (círculos azules). Las interneuronas excitan a sus correspondientes poblaciones de motoneuronas flexoras (MFlex) y extensoras (MExt) (Modificado de McCrea y Rybak, 2008). B) Representación esquemática de la organización de las vías neuronales que excitan a las motoneuronas después de la administración de L- DOPA. Las terminales excitatorias están indicadas por flechas y las inhibitorias por círculos grises. ARFi, aferentes del reflejo flexor ipsilaterales; AFRc, aferentes del reflejo flexor contralaterales; flex, motoneurona flexora; ext, motoneurona extensora (Modificado de Jankowska y cols., 1967).

La evidencia experimental que apoya a la organización de los GCPs tipo hemicentro fue provista por Jankowska y cols (1967). En sus protocolos experimentales administraron L-DOPA y estimularon eléctricamente a gatos espinalizados, produciéndose una activación prolongada de las motoneuronas flexoras ipsilaterales y de las extensoras contralaterales. Explicaron que la transmisión de las vías aferentes del reflejo flexor (ARF) ipsilateral a motoneuronas flexoras puede ser inhibida por descargas en las ARF contralaterales. La transmisión de las AFR contralateral a motoneuronas extensoras puede ser inhibida por descargas en las ARF ipsilaterales. Ellos postularon que este tipo de inhibición no es producida presinápticamente en las motoneuronas ni postsinápticamente (por aferentes primarias), por lo que se le atribuye a una inervación recíproca a nivel de interneuronas y propusieron un modelo semejante al de Brown (Figura 11B).

Los dos modelos anteriores, si bien fueron los primeros en ser establecidos, tienen algunas limitaciones, por ejemplo, la organización tipo hemicentro produce alternancia entre la actividad flexora y extensora, pero no puede generar la actividad de ciertos grupos de motoneuronas, las cuales disparan dos veces por ciclo, por ejemplo, las relacionadas al músculo bíceps posterior y semitendinoso (Perret, 1988). Por lo anterior se han propuesto otros modelos en los que se ha agregado circuitería para separar la generación de ritmo y la activación de motoneuronas y así explicar la actividad bifásica (Perret, 1988, figura 12A).

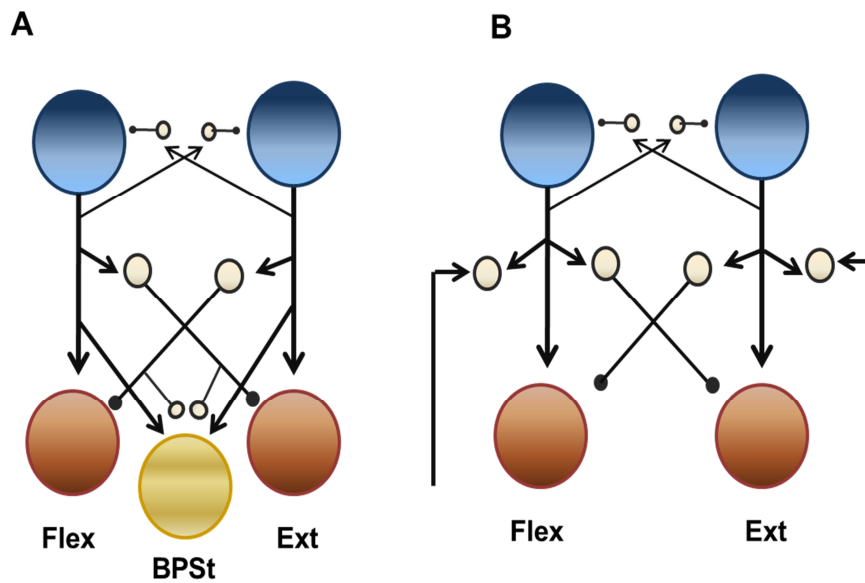


Figura 12. A) Representación esquemática de modelos de una capa A) Los hemicentros flexor y extensor tienen conexiones con poblaciones de motoneuronas bifuncionales (BPSt, Bíceps Posterior y Semitendinoso) (Tomado de Perret, 1988). B) Las motoneuronas reciben entradas sinápticas de los hemicentros y de aferentes (círculos laterales) (Tomado de McCrea y Ryback, 2008).

Otra limitante de estos modelos es que las interneuronas excitatorias que generan el ritmo motor están conectadas directamente a las motoneuronas, en consecuencia, cualquier cambio en la excitabilidad de estos grupos neuronales afectará directamente a las motoneuronas, tanto en su ciclo como en su tiempo de disparo. De ésta forma, se han propuesto otros esquemas de organización del GCP (figura 12B), en donde se ha adicionado neuronas que se activan en paralelo a las neuronas excitatorias del hemicentro y ayudan a la activación de las

motoneuronas. Estas poblaciones adicionales excitan a las motoneuronas que depende de las aferencias específicas durante las diferentes fases del ciclo motor. Dado que las motoneuronas no forman parte de la generación del ritmo, la activación de las motoneuronas puede ser modulada sin afectar el ritmo. Asimismo, dado que las neuronas involucradas en la generación del ritmo influyen directamente a las motoneuronas, la duración del ciclo no puede ser regulada independientemente de éstas (Orlovsky, 1999).

MODELOS DE DOBLE CAPA

Diversos autores han sugerido modelos más complejos, de doble capa, ya que existen muchas desventajas en los modelos de una sola capa. Este tipo de organización se ha sugerido con el objetivo de explicar patrones motores como sacudir la extremidad (Koshland y Smith, 1989) y también, de forma muy importante para explicar las ausencias de la actividad electroneurográfica (ENG)

Dunseys (1977), describió por primera vez la desaparición espontánea de la descarga en un músculo flexor durante la locomoción en una banda sin fin (figura 13A). Grillner y Zagger (1979), usando la preparación de locomoción ficticia por administración de L-Dopa, reportaron fallas en la actividad extensora (figura 13B).

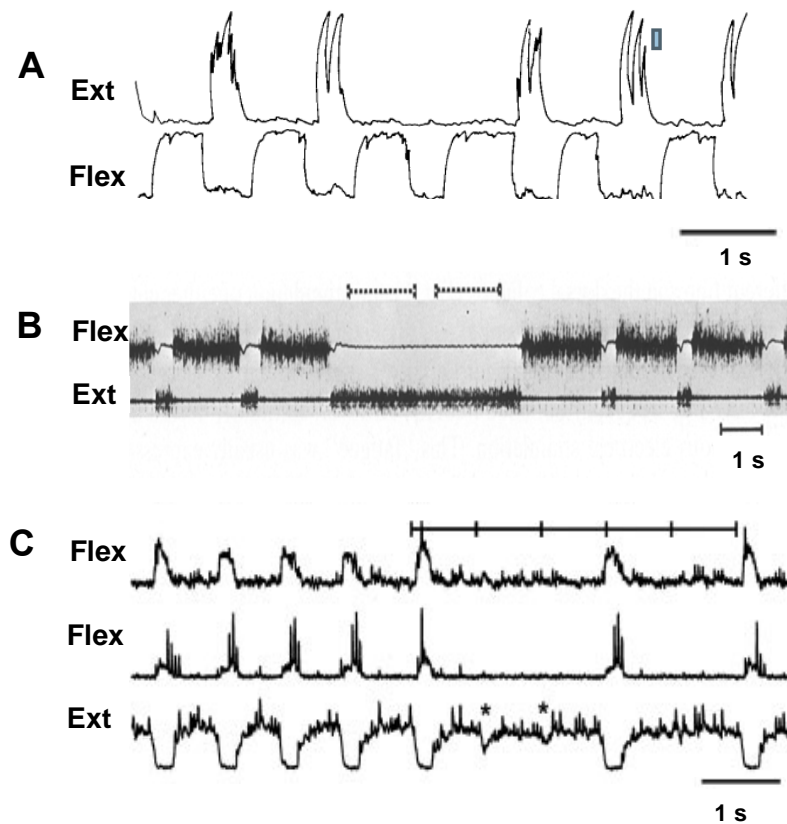


Figura 13. A) Ausencias de la actividad electromiográfica de un músculo flexor durante la locomoción en banda sin fin (Modificado de Dunseys, 1977). B) Ausencias de la actividad electromiográfica de un músculo extensor durante la locomoción obtenida por la administración de L-Dopa (Modificado de Grillner y Zangger, 1979). C) Ausencias de la actividad electroneurográfica flexoras durante la locomoción por estimulación de la RLM.

Las ausencias son fallas en la actividad rítmica de las motoneuronas, es decir, se presentan como una reducción o ausencia en una o más descargas de actividad rítmica. Las ausencias ocurren espontáneamente durante el rascado ficticio y la locomoción ficticia (Figura 13C). Durante el rascado, estas fallas han

sido reportadas sólo durante la actividad extensora en el gato (Lafreniere-Roula y McCrea, 2005) y en la tortuga (Stein, 2005)

Durante la locomoción, estas ausencias pueden ocurrir sin alterar la duración del ciclo, o bien, alterándolo. El mantenimiento de la duración del ciclo cuando algunas ausencias ocurren, sugiere la separación de las funciones de generación de ritmo y generación del patrón de la marcha. Se ha propuesto entonces que las ausencias pueden ser clasificadas en “no reiniciadoras” y “reiniciadoras” del ritmo (Lafreniere-Roula y McCrea, 2005).

El primer tipo resultaría de una perturbación que ocurre en la red formadora de patrones, pero sin afectar al generador de ritmo y se asocia al mantenimiento de la fase del ritmo locomotor. El segundo tipo de ausencia podría resultar de una perturbación que afecte al generador de ritmo; este tipo de ausencia por un cambio en la fase del ritmo locomotor (Lafreniere-Roula y McCrea, 2005).

Entonces, los cambios en la excitabilidad de la red generadora de ritmo podrían resultar en cambios espontáneos en el ciclo, y dependiendo de las interacciones entre las redes formadoras de ritmo y la de patrones, podrían resultar en la ausencia de actividad de motoneuronas (Figura 13C, Lafreniere-Roula y McCrea, 2005).

Se ha encontrado que la salida (motoneuronas) del generador de ritmo espinal no forma parte de la ritmogénesis. Lo anterior ha sido demostrado por medio de la estimulación de las raíces ventrales durante en rascado y la

locomoción ficticios (Pratt y Jordan 1980; Felman y Orlovsky, 1975). Además, evidenciaron que la estimulación a una alta frecuencia no afecta el ritmo de la locomoción ni del rascado, aunque si puede afectar a las motoneuronas alfa.

Algunos autores han propuesto un modelo en el que separan a las poblaciones de interneuronas. Ellos proponen que existen poblaciones de interneuronas que controlan por separado el ritmo (generador de ritmo, GR) y el patrón (generador de patrones (GP) (Rybak y cols. 2006, McCrea y Rybak, 2008). Este tipo de modelo (Figura 14) permite explicar el fenómeno de ausencias “no reiniciadoras” del ritmo.

Orsal y cols. (1990) reconocieron la importancia de las entradas sensoriales aferentes para determinar la actividad de las motoneuronas y la necesidad de separar el control de las motoneuronas de la temporalidad del ritmo.

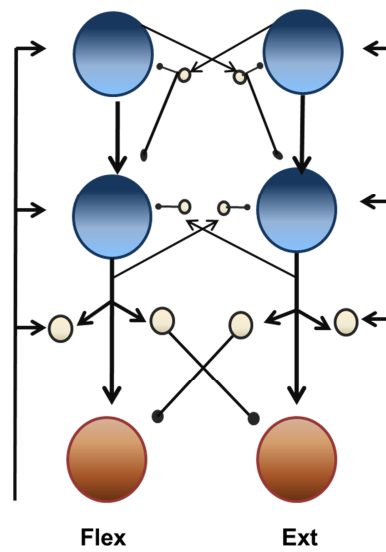


Figura 14. Modelo de generador central de patrones de dos niveles, en el que se separan las poblaciones de interneuronas en generador de ritmo (círculos azul oscuro) y formador de patrones (círculos azul claro). Modificado de McCrea y Rybak, 2008).

Una separación en generador de ritmo y generador de patrones fue sugerida por Kriellaars y cols. (1994) para explicar cómo las vías sensoriales son capaces de alterar la temporalidad del ciclo sin afectar el nivel de actividad de las motoneuronas

El generador central de patrones también ha sido dividido en un hemicentro generador de ritmo y módulos recíprocos que son responsables de la despolarización e hiperpolarización de diferentes grupos de motoneuronas (Jordan, 1991).

En el modelo de Burke y cols. (2001) se propone que las interneuronas de último orden reciben entradas sensitivas. Por ello, éste modelo puede ser considerado como un modelo de triple capa.

Grillner (1981) sugirió que los grupos de motoneuronas están controlados por unidades generadoras de ráfagas (UGR). Es decir, se trata de diferentes osciladores, cada uno de ellos corresponde a la articulación de la cadera, rodilla y tobillo (Figura 15A). Además se encuentran acoplados a lo largo de la médula espinal y tienen una organización tipo hemicentro, como lo propuesto por Brown en 1914.

Finalmente, en un modelo reciente (Pérez y cols., 2009) se propone una combinación entre el modelo de las UGR y la hipótesis de la doble capa del GCP (figura 15B). Es decir, en este modelo de tipo asimétrico se presenta una distribución longitudinal a lo largo de segmentos lumbares y sacros de las interneuronas pertenecientes al GCP, las cuales, en conjunto, pueden generar una onda de potencial eléctrico que se propaga a lo largo de dichos segmentos (Cuellar y cols., 2009, figura 16A).

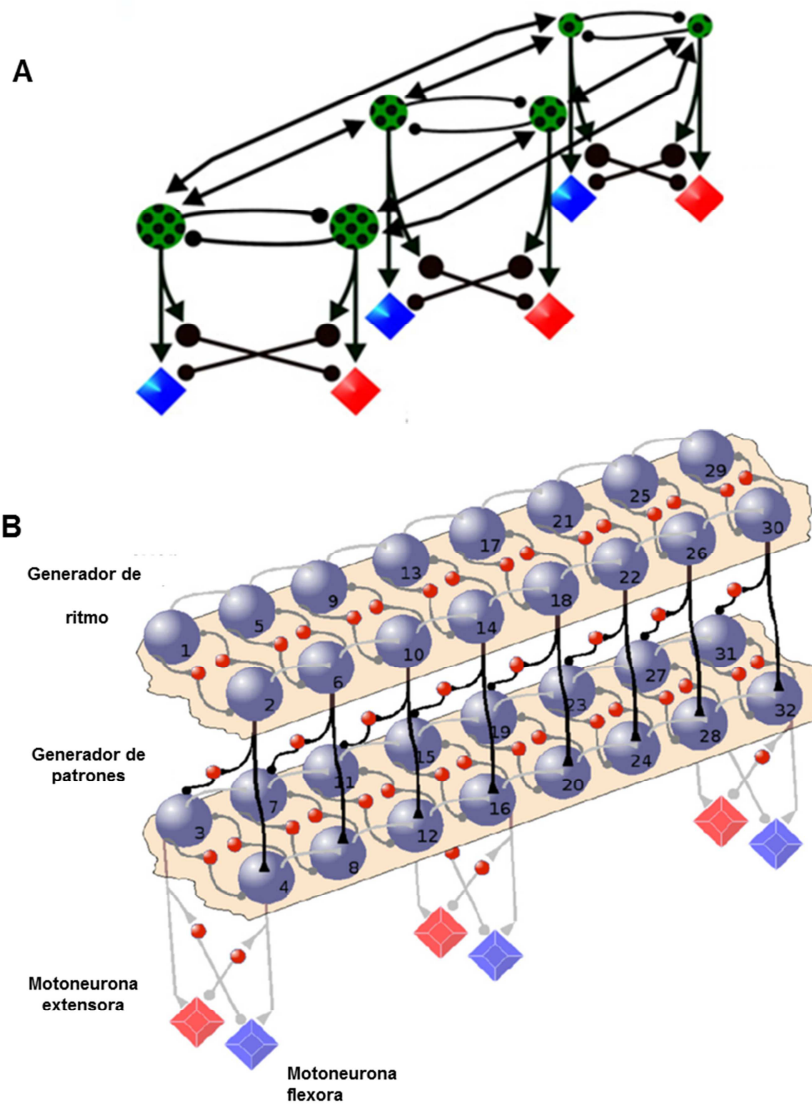


Figura 15. A) Unidad Generadora de Ráfagas, propuesto por Grillner (1981). Cada oscilador tiene una organización tipo hemicentro y está acoplado en la médula espinal (Tomado de Mc Crea y Rybak, 2008). B) Modelo de GCP de doble capa asimétrico acoplado dinámicamente a lo largo de la médula espinal, (Tomado de Pérez, 2009).

ONDAS DE POTENCIAL ELÉCTRICO SINUSOIDAL DURANTE DOS TAREAS RÍTMICAS

En nuestro laboratorio se ha descrito la ocurrencia del fenómeno de ondas eléctricas sinusoidales que se propagan a lo largo de segmentos lumbares y sacros durante dos tareas rítmicas (Figura 16): el rascado ficticio (Cuellar y cols, 2009) y la locomoción ficticia espontánea (Trejo, 2010).

Lo anterior se realizó colocando un sistema de multielectrodos sobre la médula espinal (Manjarrez y cols., 2005). En este contexto, se analizó la distribución espacio temporal de los potenciales de campo del dorso de la médula espinal durante las mencionadas tareas. Se encontró que los potenciales de campo sinusoidales se distribuyen a lo largo de los segmentos lumbo-sacros, específicamente entre los segmentos L4 a S1 (Figura 16, panel inferior).

El registro intraespinal a diferentes profundidades de la médula espinal mostró que los potenciales asociados con el rascado y la locomoción tienen una forma similar a los potenciales registrados en la superficie. Además la amplitud máxima de los potenciales intraespinales se registra en el asta dorsal y en el núcleo intermedio (Trejo, 2010).

Otro resultado importante es que existe una correlación significativa entre la duración de los ciclos de la onda sinusoidal y los ciclos flexión-flexión y extensión-extensión de la locomoción (Trejo, 2010). Sin embargo en el caso del rascado ficticio, la duración del potencial sinusoidal no se correlaciona con la duración de la descarga extensora (Cuellar y cols., 2009).

Los datos anteriores constituyen una evidencia directa sobre la distribución longitudinal de los GCP del rascado y la locomoción.

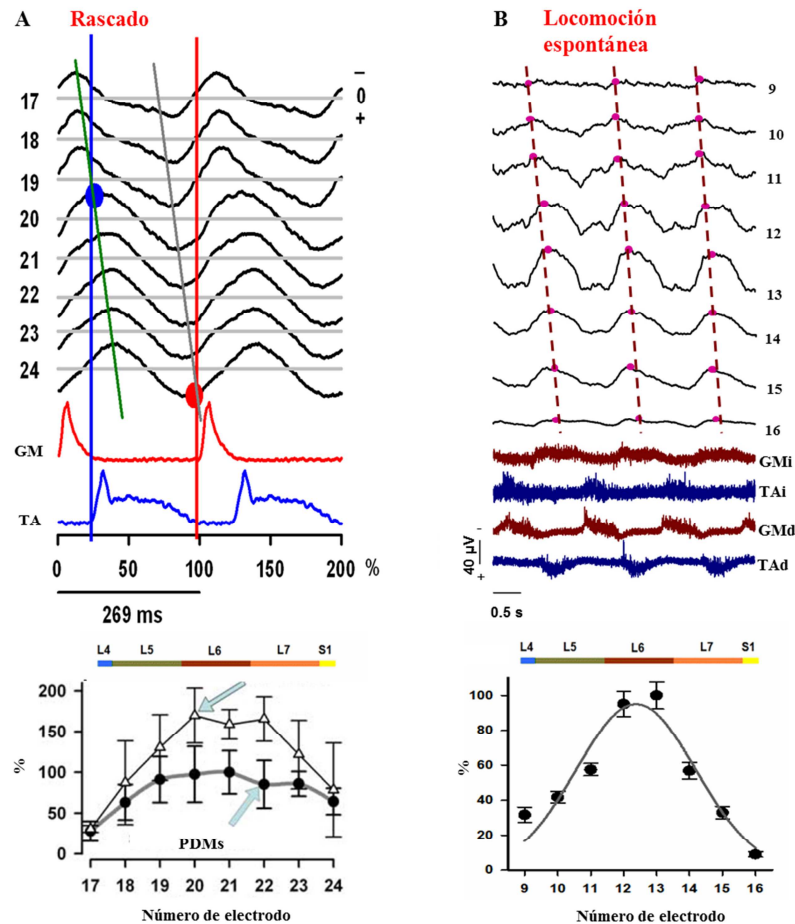


Figura 16. Registro de ondas de potencial eléctrico sinusoidales en el dorso de la médula espinal asociadas al A) rascado ficticio y B) Locomoción ficticia espontánea. El panel inferior muestra la distribución lumbo-sacra de la amplitud de los PDMs correspondientes. PDMi, PDMd, potencial del dorso de la médula izquierdo y derecho; GMi, GMd, gastrocnemio medial izquierdo y derecho; TAI, TAd; tibial anterior izquierdo y derecho (Tomado de Trejo, 2010).

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En un estudio previo de nuestro laboratorio (Trejo, 2010) se reportó la ocurrencia del fenómeno de propagación de ondas de potencial eléctrico sinusoidales asociadas a la locomoción ficticia. En particular, se encontró que la amplitud de dichas ondas se encuentra distribuida a lo largo de los segmentos L4-S1, sugiriendo que el generador central de patrones para la locomoción se distribuye a lo largo de estos segmentos. En congruencia con estos resultados, en la literatura existen modelos que proponen una organización en que las interneuronas pertenecientes al generador central de patrones están interconectadas a lo largo de los segmentos espinales L4 a S1 (Grillner, 1981; Pérez y cols, 2009). Sin embargo, no se conoce a fondo la organización del GCP cervical y de las neuronas activadas por éste. En virtud de lo anterior, consideramos de gran importancia el caracterizar la actividad poblacional de la médula espinal del gato en segmentos cervicales, debido a que es el primer abordaje poblacional sobre el estudio de los generadores centrales de patrones relacionados con los miembros anteriores, lo que permitirá determinar su localización, distribución y acople con los GCP de los miembros posteriores. El presente trabajo adquiere especial relevancia debido a que sería la primera aproximación para entender la organización poblacional del GCP en segmentos cervicales y de esta manera apoyar a futuros estudios sobre su arquitectura.

Asimismo, el presente trabajo de tesis constituye el primer reporte de la locomoción post-rascado. Estudiar la transición de una tarea rítmica a otra es de

gran importancia para dilucidar la organización de los GCPs. Existen estudios que sugieren que los generadores centrales del rascado y la locomoción pueden compartir grupos de interneuronas espinales (Perreault 1999, Vázquez, 2009); lo cual es consistente con otros trabajos que han reportado que en la médula espinal de la tortuga hay interneuronas que se encuentran activas durante el nado y el rascado (Berkowitz, 2008). Sin embargo, aún no se tiene conocimiento sobre la posible activación secuenciada de los generadores centrales del rascado y de la locomoción. De esta forma, el presente trabajo de tesis se pretende proporcionar evidencia directa en el gato que ayudará a dilucidar si los GCP del rascado y la locomoción comparten poblaciones de interneuronas, además de que se modela las posibles conexiones de tales grupos neuronales para realizar la transición de una tarea motora de alta frecuencia, como es el rascado, a una de baja frecuencia, como lo es la locomoción.

Es así que el propósito del presente trabajo es caracterizar el fenómeno de locomoción post-rascado en el gato, el cual podría ser empleado en el diseño de experimentos que respondan a la pregunta si los GCPs para diferentes tareas motoras están compartidos o separados.

V. HIPÓTESIS

1. Durante la locomoción ficticia espontánea ocurren ondas de potencial eléctrico sinusoidales en los segmentos cervicotorácicos C4-T1.

2. La locomoción ficticia post-rascado es generada por grupos de neuronas espinales distribuidas en la misma región que las neuronas que generan la locomoción ficticia espontánea y el rascado ficticio. Asimismo, la locomoción ficticia post-rascado manifiesta características similares a las de la locomoción espontánea en términos de frecuencia y amplitud de los potenciales sinusoidales del dorso de la médula espinal.

VI. OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la actividad eléctrica poblacional que ocurre en la médula espinal cervical y torácica durante la locomoción ficticia espontánea.

Determinar la ocurrencia de actividad locomotora después del rascado y compararla con la locomoción ficticia espontánea.

VII. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Identificar los segmentos espinales a nivel cervical y torácico que generan ondas de potencial eléctrico sinusoidal durante la locomoción ficticia espontánea.
2. Caracterizar la distribución de la amplitud dichos potenciales eléctricos sinusoidales en segmentos espinales cervicales y torácicos durante la locomoción ficticia espontánea.
3. Realizar un análisis de correlación entre la duración del ciclo de las ondas sinusoidales registradas en los segmentos C4-T1 con la duración del ciclo de las ondas sinusoidales registradas en L4- S1 durante la locomoción ficticia espontánea.
4. Caracterizar la frecuencia de las ondas sinusoidales registradas en segmentos cervico-torácicos durante la locomoción ficticia espontánea.
5. Determinar la latencia comprendida entre el episodio de rascado ficticio y el inicio de la locomoción post-rascado.
6. Caracterizar la duración, el ciclo de trabajo y la amplitud de las descargas de los nervios flexores y extensores durante la locomoción ficticia post-rascado.

7. Determinar la frecuencia de las ondas espinales sinusoidales registradas durante la locomoción post-rascado.
8. Estudiar la distribución de la amplitud a lo largo de los segmentos espinales L4-S1 de las ondas sinusoidales registradas durante la locomoción post-rascado.
9. Realizar registro extracelular unitario de las interneuronas asociadas al rascado ficticio y a la locomoción ficticia post-rascado.
10. Llevar a cabo un análisis comparativo entre las características de la locomoción ficticia espontánea y la locomoción ficticia post-rascado.
11. Realizar un correlato conductual del fenómeno de locomoción ficticia post-rascado.
12. Establecer un modelo computacional que reproduzca los hallazgos experimentales del fenómeno de locomoción ficticia post-rascado.

VIII. METODOLOGÍA

Los experimentos se llevaron a cabo en gatos adultos (machos y hembras) con un peso de 2.5 a 3.5 kg. Todos los procedimientos quirúrgicos que se emplearon en preparación de gato descerebrado cumplieron con la norma oficial mexicana 062-ZOO-1999 y con los lineamientos de la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio 85-23 (1985), de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de Norteamérica.

El anestésico que se utilizó fue isoflurano con una mezcla de oxígeno al 70%; dicho anestésico fue usado a una concentración de 4% como dosis inicial y de 2% como dosis de mantenimiento. Como primer paso, el gato fue colocado en una caja de inducción, y posteriormente, se le colocó una mascarilla para continuar la administración del anestésico.

En todos los experimentos se monitorearon las constantes fisiológicas de los animales: frecuencia respiratoria, frecuencia cardiaca y temperatura. Asimismo, durante todos los procedimientos, se verificó la ausencia de reflejos pupilares, la nula respuesta ante estímulos nociceptivos y la falta de tono muscular.

Como parte de los procedimientos quirúrgicos se llevó a cabo una traqueotomía para colocar una cánula intratraqueal y de ésta forma asegurar la administración directa del anestésico por vía aérea. Además, se localizó y disecó la arteria carótida y se le insertó un catéter; éste último se conectó a un

transductor y de ésta forma se obtuvo la lectura de la presión arterial durante todo el experimento. Usando una bomba de perfusión (Mini-PUMP 7892 K05, Thomas Scientific) se administró una solución amortiguadora: glucosa 5%, NaCOH3 0.84% (5 ml/hora). Asimismo, se administraron fármacos y soluciones indicados en la tabla 1 vía intravenosa (IV), para lo cual se disecó y canuló la vena radial.

Tabla 1. Fármacos administrados durante el experimento

Fármaco	Concentración	Volumen
Atropina (SC)	10mg/ml (1-2mg/kg)	0.5 ml
Dexametasona	4mg/ml	1 ml
Dextran	4 %	3-10 ml
Bromuro de pancuronio	0.4 mg/ml	1 ml
Epinefrina	0.1mg/ml (1 ampolleta en 10ml sol. Salina al 9%)	1 ml

Con la finalidad de exponer la médula espinal se llevó a cabo una laminectomía de los segmentos cervicales, torácicos, lumbares y sacros según fue requerido de acuerdo a cada protocolo experimental. También se disecaron los nervios extensores gastrocnemio medial izquierdo y derecho (GMi, GMd),

gastrocnemio lateral izquierdo y derecho (GLi, GLd), y los nervios flexores tibial anterior izquierdo y derecho (TAi, TAd) para su registro electroneurográfico.

Una vez disecados los nervios y expuesta la médula espinal, los animales fueron trasladados a un aparato estereotáxico, en donde utilizando la piel del animal, se formaron pozos para poder llenar los tejidos expuestos con aceite mineral a una temperatura de 37°C, lo anterior con la finalidad de proteger los tejidos. Asimismo, se disecó la duramadre y se fijó a los músculos circundantes.

DESCEREBRACIÓN

Se realizó una craneotomía, se traccionó momentáneamente la arteria carótida derecha, y usando una espátula, se llevó a cabo una descerebración a nivel precolicular- premamilar (Figura 17). Todos los tejidos rostrales a esa sección fueron removidos cuidadosamente. Una vez finalizada la descerebración, se retiró la anestesia gaseosa y los gatos se ventilaron artificialmente. En ese momento, los animales se paralizaron usando bromuro de pancuronio, administrado por vía intravenosa a la dosis indicada en la tabla 2. Al final del experimento, se les administró a los animales una sobredosis de pentobarbital sódico (50mg/kg, euanasia).

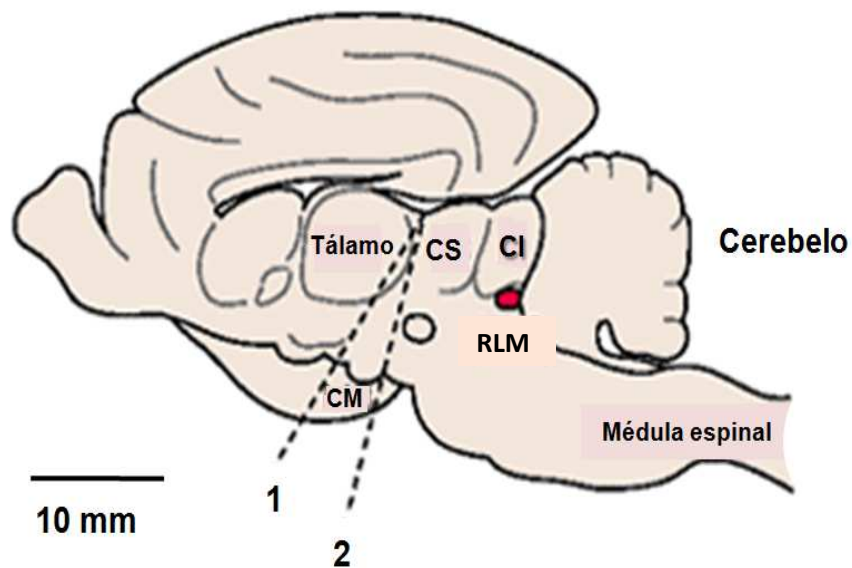


Figura 17. Corte 1: descerebración precolicular-premamilar, corte 2: descerebración precolicular-postmamilar. CI, colículo inferior; CS, colículo superior; CM; cuerpo mamilario. RLM, región locomotora mesencefálica.

REFLEJO DE RASCADO

Para la inducción del rascado se aplicó una solución de D-tubocurarina (PM 681.65 gr/mol. Sigma Aldrich) al 1% (10 mg en 1 ml de solución salina) la cual se colocó sobre la superficie de la médula espinal en los segmentos cervicales C1-C2, para ello se usó una torunda de algodón inmersa en la solución. El reflejo de rascado se obtuvo mediante la estimulación del pabellón auricular o sobre la región pericefálica del gato (alrededor del cuello y en la zona mandibular). Se

estimuló frotando ligeramente con un objeto de punta roma. En algunos casos el rascado se produjo espontáneamente; es decir, sin estimulación.

REGISTRO DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA ESPINAL

REGISTRO POBLACIONAL

La actividad eléctrica poblacional de la médula espinal fue registrada mediante un arreglo de electrodos de plata clorurada (“de bola” y de 2 mm de diámetro), posicionados sobre la superficie de la médula espinal lumbo-sacra, y en algunos experimentos sobre la región cervico-torácica. El arreglo de multielectrodos se muestra en la figura 18. El primer multielectrodo consta de dos filas con doce electrodos cada una, con una separación de 3mm a lo largo del eje rostrocaudal y de 1mm a lo largo en dirección mediolateral (Figura 18A). El segundo multielectrodo consta de cuatro filas de ocho electrodos con una separación de 5mm a lo largo del eje rostrocaudal y de 1mm a lo largo en dirección mediolateral (Figura 18B).

Los multielectrodos se conectaron a un amplificador electroencefalográfico SynAmps. Las señales obtenidas se registraron usando una frecuencia de muestreo de 10 kHz con un filtro pasa bandas de 0.05 a 200 Hz en AC o de DC a 200 Hz.

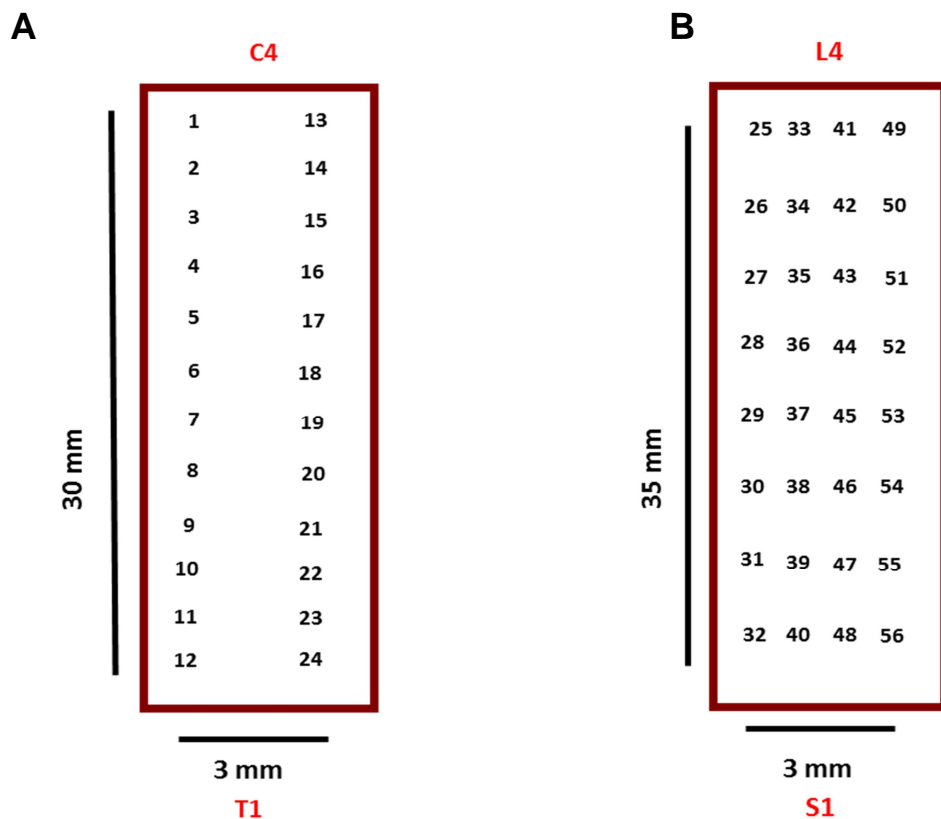


Figura 18. Arreglo de multielectrodos. A) El multielectrodo consta de dos filas de doce electrodos cada una. B) Multielectrodo compuesto por cuatro filas de ocho electrodos cada una.

REGISTRO UNITARIO DE INTERNEURONAS

En cuatro experimentos la actividad eléctrica unitaria de interneuronas fue registrada durante el rascado y la locomoción ficticia. Previamente, determinamos la zona de mayor actividad eléctrica en la médula espinal. En esa zona se introdujeron micropipetas de borosilicato, llenas con NaCl a una concentración 3

molar y con una resistencia de 7 a 15 M Ω . Simultáneamente, se registraron electroneurogramas de un nervio flexor y un nervio extensor, así como la actividad eléctrica del dorso de la médula espinal por medio de un electrodo de plata de punta redonda colocado cerca de la micropipeta (Figura 19). Las señales obtenidas se enviaron a un amplificador Grass, Astro-Med Inc., a una tarjeta de conversión digital y finalmente se almacenó utilizando el programa Axoscope 10.2, o bien con un amplificador electroencefalográfico NeuroScan Synamps. La frecuencia de muestreo empleada fue de 10 kHz, con un filtro pasa altas de 0.05 Hz.

En dos experimentos (2/16 gatos) empleamos una matriz cinco electrodos de cuarzo-platino-tungsteno del sistema Mini Matrix de Thomas Recording, para el registro unitario de interneuronas en el segmento espinal L6. La impedancia del electrodo (1-2 M Ω) fue verificada por medio de un electrodo de prueba (5nA/1kHz onda sinusoidal). En este sistema se utilizó un amplificador (MAF-05, Thomas Recording GmbH) con una ganancia de 250 y filtros pasabandas de 0.5-20 kHz.

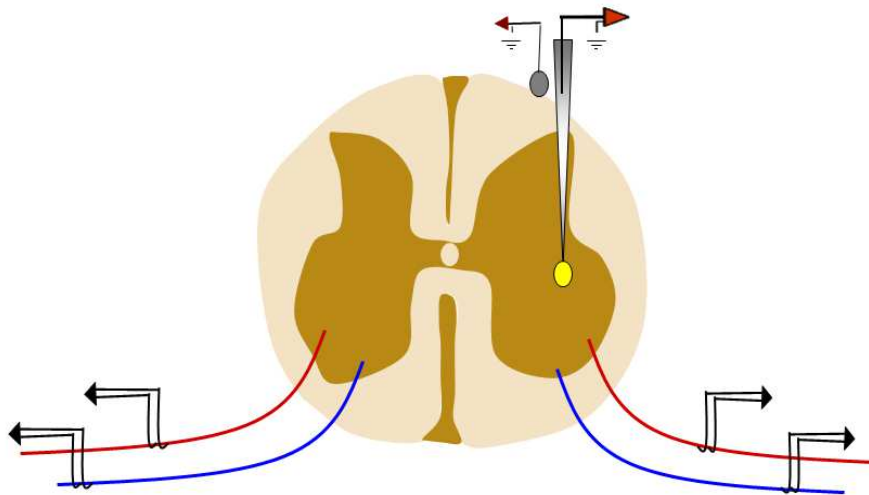


Figura 19. Arreglo experimental para el registro de interneuronas durante el rascado y la locomoción ficticia. Se registraron simultáneamente la actividad eléctrica unitaria de interneuronas, electroneurogramas de nervios flexores y extensores y potenciales de campo del dorso de la médula espinal.

ANALISIS DE DATOS

MEDICIÓN DE LA AMPLITUD DE LOS POTENCIALES LOS POTENCIALES SINUSOIDALES DEL DORSO DE LA MÉDULA ESPINAL EN SEGMENTOS CERVICO-TORÁDICOS Y EN SEGMENTOS LUMBO-SACROS

En los experimentos en los cuales se registró simultáneamente la actividad del dorso de la médula espinal en segmentos lumbo-sacros y cervico-torácicos durante la locomoción ficticia espontánea, se realizó un análisis de amplitud de los potenciales eléctricos sinusoidales. Para ello, se seleccionó el electrodo en donde se registró la máxima amplitud de dichos potenciales y utilizando el programa

Neuroscan Synamps se hizo una medición de los mismos de la cresta al valle como se muestra en la figura 25. El rectángulo rosa indica la forma en que se midió la duración del ciclo de las ondas sinusoidales cervico- torácicas, y el rectángulo azul, indica la duración del ciclo de los potenciales sinusoidales registrados a nivel lumbo-sacro. Asimismo, se identificó la región de la médula espinal cervico-torácica en donde se registró la máxima amplitud de los potenciales sinusoidales. Para lo cual se identificó el electrodo con el cual se registró la máxima amplitud y se verificó en la histología de la médula espinal donde fue posicionado dicho electrodo.

ANÁLISIS DE CORRELACIÓN

Para examinar si existía una correlación entre la duración de los ciclos de las ondas de potencial eléctrico sinusoidales registradas en segmentos cervicales y lumbrales se seleccionaron los electrodos en donde se registró la máxima amplitud de la onda sinusoidal y se midió la duración de los potenciales sinusoidales. La figura 25 muestra la forma en que se midió en ciclo del potencial de dorso de la médula espinal. Se consideró del pico de máxima amplitud de la onda sinusoidal, al siguiente pico de ésta. Posteriormente se hicieron análisis de correlación lineal con los datos obtenidos con ayuda del programa SigmaPlot 12.0 con un nivel de significancia de $p < 0.01$.

ANÁLISIS DE FRECUENCIA DE LAS ONDAS SINUSOIDALES REGISTRADAS EN SEGMENTOS CERVICO-TORÁDICOS Y EN SEGMENTOS LUMBOSACROS

Este análisis fue hecho por medio del cálculo de espectros de potencia usando el programa MATLAB MathWorks.

MEDICIÓN DE LOS CICLOS DE RASCADO FICTICIO Y DE LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO

En la figura 36 se muestra un ejemplo de la medición de la duración de los ciclos de rascado ficticio (líneas punteadas azules) y de locomoción ficticia post-rascado (líneas punteadas magenta); esto fue del inicio de una descarga del nervio flexor, al inicio de la siguiente descarga.

MEDICIÓN DE LAS AMPLITUDES DE LAS DESCARGAS DE LOS NERVIOS FLEXORES Y EXTENSORES

La figura 39 indica la forma en que se midieron las amplitudes de las descargas de los nervios flexores y extensores, para lo anterior se usó el programa NeuroScan Synamps del cual se obtuvo la medición en microvolts (μV). Las flechas azules de la mencionada figura, indican la amplitud de la descarga del nervio extensor y las flechas rojas indican la amplitud de la descarga en el nervio flexor.

CÁLCULO DE LA FRECUENCIA INSTANTÁNEA DE LOS CICLOS DE RASCADO FICTICIO Y DE LOCOMOCIÓN POST-RASCADO

Para calcular la frecuencia instantánea de los ciclos de rascado ficticio y de locomoción ficticia post-rascado se midió la duración del ciclo flexor usando el programa Neuroscan Synamps y se empleó la fórmula $1/\text{periodo}$. Finalmente se graficó el número de ciclo contra su frecuencia instantánea.

MEDICIÓN DEL CICLO DE TRABAJO DE LA LOCOMOCIÓN POST-RASCADO

El ciclo de trabajo fue determinado como la razón entre la duración de la fase flexora o extensora y la duración del ciclo flexor o extensor (ciclo de trabajo= duración de la fase/ duración del ciclo). Usando el programa Neuroscan Synamps se determinó la duración de los ciclos flexores y extensores determinados como del inicio de la descarga del nervio hasta el inicio de la siguiente descarga, además usando el mismo programa se midió la duración de la descarga flexora y extensora (ver figura 39).

CÁLCULO DE LA FRECUENCIA DE LAS ONDAS SINUSOIDALES REGISTRADAS DURANTE EL RASCADO FICTICIO Y LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO

Para determinar la frecuencia de las ondas de potencial eléctrico sinusoidales registradas en el dorso de la médula espinal durante el rascado ficticio y la locomoción ficticia post-rascado se calcularon espectros de potencia usando el programa Matlab MathWorks. Se hicieron bloques de los episodios de locomoción por experimento, se seleccionó el electrodo en donde se registró la máxima amplitud de los potenciales de campo del dorso de la médula espinal y los registros seleccionados se convirtieron a código ASCII. Finalmente usando el programa Matlab MathWorks se determinaron las frecuencias de los ciclos de actividad locomotriz y de la onda de potencial eléctrico asociada tal actividad.

ANÁLISIS DE LA AMPLITUD INTERSEGMENTAL DE LOS POTENCIALES DEL DORSO DE LA MÉDULA ESPINAL DURANTE EL RASCADO FICTICIO Y LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO Y LA LOCOMOCIÓN ESPONTÁNEA

Se analizaron los registros de la actividad eléctrica de la médula espinal durante la locomoción ficticia espontánea, post-rascado y rascado ficticio, según fue requerido. Para hacer la medición se seleccionaron los electrodos de registro laterales izquierdos y derechos de la matriz de 32 canales y en cada uno se midió la amplitud de los potenciales eléctricos sinusoidales de pico a pico. Estos valores

se normalizaron y se graficaron contra el número de electrodo en el que se registró la onda sinusoidal.

CÁLCULO DE LA VELOCIDAD DE PROPAGACIÓN DE LAS ONDAS DE POTENCIAL ELÉCTRICO SINUSOIDAL ASOCIADAS A RASCADO FICTICIO Y A LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO

Usando el programa Neuroscan Synamps, se midió el tiempo que transcurre entre el pico de máxima amplitud de los PDMs registrados en el electrodo más rostral (1 o 25) y el pico de máxima amplitud del PDMs registrados en el siguiente electrodo (Δt), y así sucesivamente.

Una vez obtenido el Δt , se graficó contra la distancia entre cada electrodo (Δx), que es de 5 mm. Se calculó la pendiente de la parte linear de la gráfica, para ello se usó el análisis de regresión linear del programa SIGMA-PLOT (pendiente = $\Delta t / \Delta x$). Finalmente se obtuvo el inverso de la pendiente para obtener la velocidad de propagación (velocidad = $1 / \text{pendiente}$).

ANÁLISIS DE LA DESCARGA DE INTERNEURONAS

Con la finalidad de determinar la fase preferencial de descarga (extensora, flexora o intermedia) de las interneuronas registradas, se construyeron histogramas del número de espigas de cada interneurona durante el ciclo de

rascado y del de locomoción postrascado. Los histogramas fueron empleados para construir gráficas polares. De acuerdo a la metodología de Drew y Doucet (1991), utilizamos el programa Matlab MathWorks para calcular un vector promedio, cuya longitud y dirección representan la fase preferencial de descarga de cada interneurona. Aplicamos la prueba de Rayleigh para determinar la significancia del vector calculado. Las ecuaciones empleadas fueron las siguientes:

$$Y = \frac{\sum_{i=1}^n \sin a_i}{n}$$

$$r = \sqrt{X^2 + Y^2}$$

$$\bar{a} = \frac{X}{r}$$

$$\bar{a} = \frac{Y}{r}$$

Donde:

n es el número de espigas

r es la longitud del vector

\bar{a} es la dirección o ángulo promedio

HISTOLOGÍAS

La localización de los microelectrodos de registro se verificó por medio de histología. Al final de cada experimento las micropipetas usadas fueron cortadas y

dejadas el sitio de registro; enseguida, se extrajo la médula espinal lumbosacra. Se aplicó la técnica de Nissl para posteriormente ser fotografiada y reconstruida.

En nuestros experimentos registramos interneuronas asociadas a locomoción post-rascado en el segmento L6 en el núcleo intermedio y en núcleo motor. Sin embargo, es necesario discutir la posibilidad de que el corte del microelectrodo para el análisis histológico podría haber alterado su posición en la médula espinal. Además de haber cortado la micropipeta de una manera muy cuidadosa, se verificó que este procedimiento no alterara significativamente su posición en la médula espinal. Cuando se observó la histología en el microscopio, se midió la extensión de las lesiones en el tejido circundante a la micropipeta. En este trabajo se observaron lesiones de hasta 0.05 ± 0.001 mm. Las interneuronas que se registraron en un área de aproximadamente 1 mm x 3 mm del núcleo intermedio y motor del segmento espinal L6. Sugerimos que un error experimental de 0.05mm no afecta la localización de las interneuronas.

EXPERIMENTOS CONDUCTUALES

Los experimentos conductuales se llevaron a cabo en seis gatos adultos, tres machos y tres hembras. Se aplicó una prueba de campo abierto, con dimensiones 2.35 x 2.45 m, dividida en 36 cuadrantes (Figura 20). Los experimentos fueron video-grabados por medio de una cámara colocada en la parte superior de la pared.

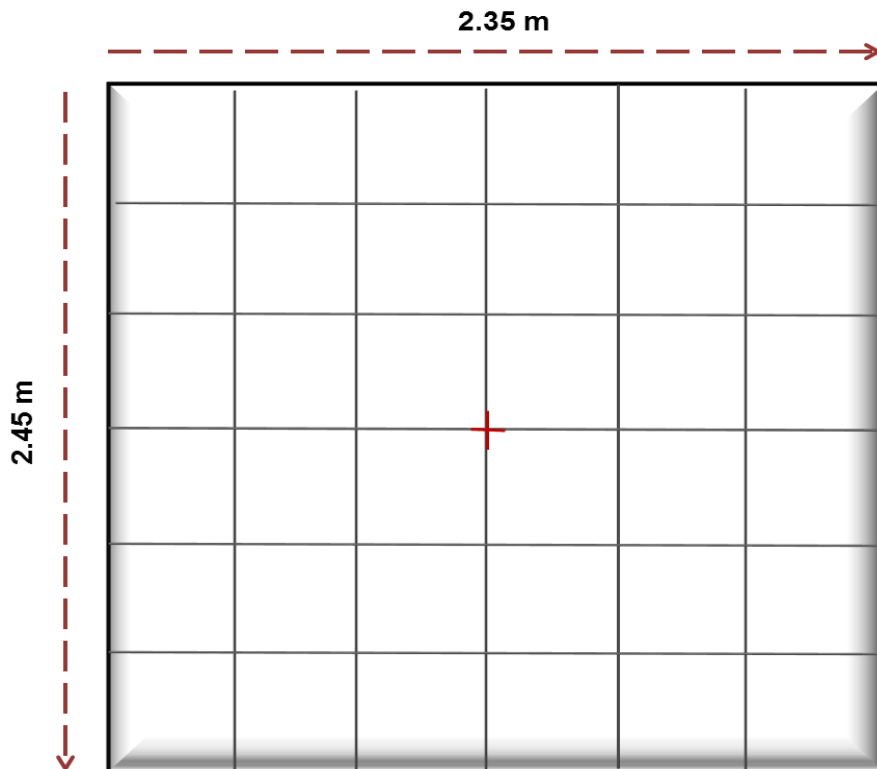


Figura 20. Esquema de la habitación de 2.45 x 2.35 m dividida en 36 cuadrantes que fue empleada para la prueba de campo abierto en gatos.

Como control, los individuos fueron colocados en el centro del campo abierto sin la torunda de algodón en el canal auricular y se observó su conducta. En la situación control se colocó a los gatos en el centro del campo abierto y se midió el tiempo para que el gato comenzara a caminar, a dicho periodo de tiempo lo denominamos **latencia control**

El tratamiento consistió en introducir a los sujetos en el centro del campo abierto para observar su conducta después de presentar un episodio de rascado.

Para inducir el rascado en los gatos, se les colocó una torunda de algodón de 3 mm de diámetro en la entrada del canal auricular, de acuerdo a la metodología seguida por Bradley y Smith (1988) y Carlson Kutha y Smith (1990) (Figura 21).



Figura 21. Entrada del canal auricular (círculo rojo)

MEDICIÓN DE LATENCIAS

LATENCIA CONTROL

Para la situación control se midió el periodo de tiempo transcurrido desde que el gato fue colocado en el centro del campo abierto hasta que comenzó a caminar, para lo cual, se usaron las videograbaciones de cada experimento. A esta latencia se le denominó latencia control.

LATENCIAS MEDIDAS CUANDO SE PRODUJO RASCADO

Se usaron las videograbaciones para determinar los periodos de tiempo comprendidos entre:

- A) Latencia 1. Colocado del gato al inicio de la locomoción.
- B) Latencia 2. Del inicio del rascado al inicio de la locomoción.
- C) Latencia 3 o latencia post-rascado. Del final del episodio de rascado al inicio de la locomoción.

TRAYECTORIA RECORRIDA

Usando las videograbaciones y los cuadrantes del campo abierto se determinaron las trayectorias que los individuos siguieron durante la marcha, éstas fueron representadas por medio de flechas (Figura 55). La fecha indica el punto donde la trayectoria terminó. Lo anterior fue hecho tanto para la situación control como para el tratamiento.

DISTANCIA RECORRIDA

Para la situación control y para el tratamiento se midió la distancia total que los gatos recorrieron. Esta medición se realizó analizando las videograbaciones y multiplicando la medida de un cuadrante por el número de cuadrantes que el individuo cruzó.

DURACIÓN Y VELOCIDAD DE LA LOCOMOCIÓN

La duración de la locomoción se determinó usando las videograbaciones tanto para el control como para el tratamiento. La velocidad de la marcha se calculó dividiendo la distancia recorrida durante la marcha entre el tiempo empleado para recorrer dicha distancia (duración de la locomoción).

ANALISIS ESTADÍSTICO

Se usaron pruebas estadísticas paramétricas (prueba t de Student) cuando los datos pasaron las pruebas de normalidad y de varianza. En caso contrario, se usaron pruebas no paramétricas (prueba U de Mann Whitney).

MODELO COMPUTACIONAL

El modelo fue basado en las ecuaciones tipo Morris-Lecar (Perez y cols., 2009). Las ecuaciones diferenciales se resolvieron con el programa MATLAB MATHWORKS, usando el método Runge-Kutta de cuarto orden.

IX. RESULTADOS

REGISTRO DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA POBLACIONAL EN EL DORSO DE LA MÉDULA ESPINAL EN SEGMENTOS CERVICALES C1-C3 DURANTE LA LOCOMOCIÓN FICTICIA ESPONTÁNEA

En un experimento se registró la actividad eléctrica del dorso de la médula espinal de los segmentos cervicales C1-C3. En la figura 22 se muestra el promedio de un episodio de locomoción de dicho experimento. Los números 1 a 8 corresponden a registros usando una fila de electrodos colocados sobre el lado izquierdo de los segmentos espinales C1-C3. También se muestra el registro de la actividad eléctrica de campo hecho sobre la médula espinal lumbar y la actividad de nervios flexores y extensores izquierdos y derechos. Como se muestra en la figura 22, no se observa la ocurrencia de ondas sinusoidales durante la locomoción ficticia espontánea en dichos segmentos.

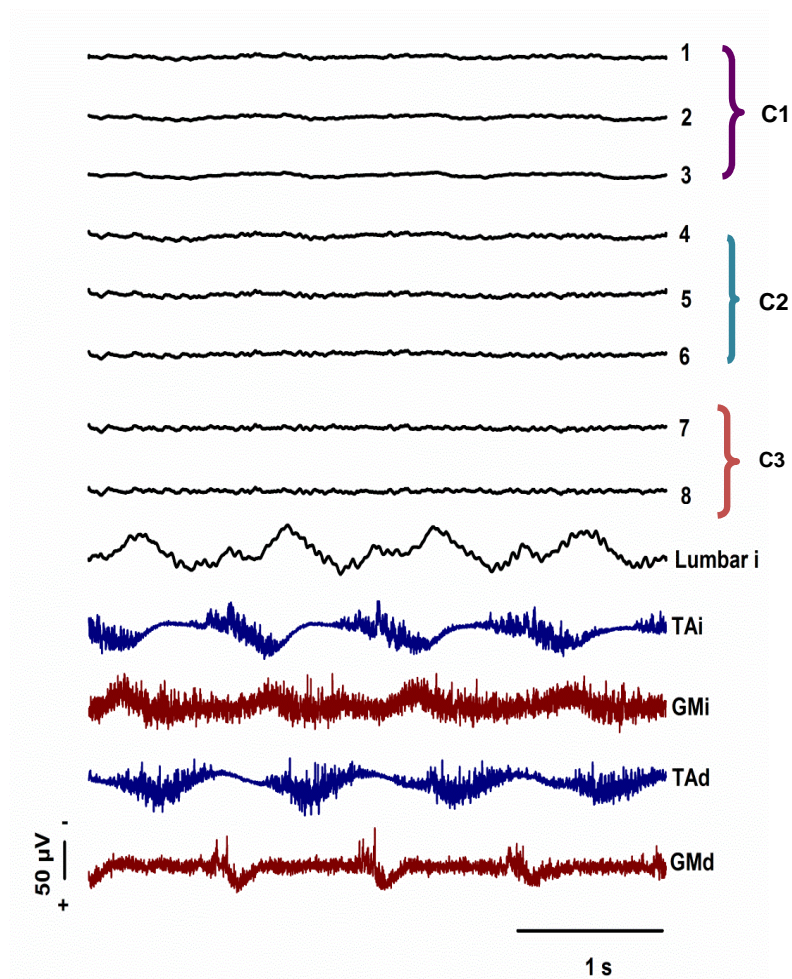


Figura 22. Registro de la actividad eléctrica del dorso de la médula espinal en los segmentos C1-C3 durante la locomoción ficticia espontánea. Nótese la ausencia de ondas sinusoidales en comparación al registro realizado en segmentos lumbares. En azul se muestra la actividad electroneurográfica flexora izquierda y derecha, y en rojo, la actividad extensora izquierda y derecha. Lumbar i, lumbar izquierdo; TAI, tibial anterior izquierdo; GMi, gastrocnemio medial izquierdo; TAd, tibial anterior derecho; GMd, gastrocnemio medial derecho.

REGISTRO DE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA POBLACIONAL EN EL DORSO DE LA MÉDULA ESPINAL EN SEGMENTOS CERVICALES Y TORÁCICOS DURANTE LA LOCOMOCIÓN FICTICIA ESPONTÁNEA

En cinco experimentos se registró la actividad del dorso de la médula espinal usando simultáneamente dos multielectrodos. Se encontró la ocurrencia de ondas de potencial eléctrico sinusoidales durante la locomoción espontánea tanto en segmentos cervico- torácicos como en segmentos lumbo-sacros; específicamente, en los segmentos C4-T1 y L4-S1 de la médula espinal.

La figura 23 ilustra registros promedio de un episodio de locomoción ficticia espontánea. Se registró la actividad de nervios flexores y extensores izquierdos y derechos. Los electrodos 1 a 12 se colocaron en la médula espinal cervico-torácica (C4-T1) y el electrodo 52 se colocó en niveles espinales lumbares.

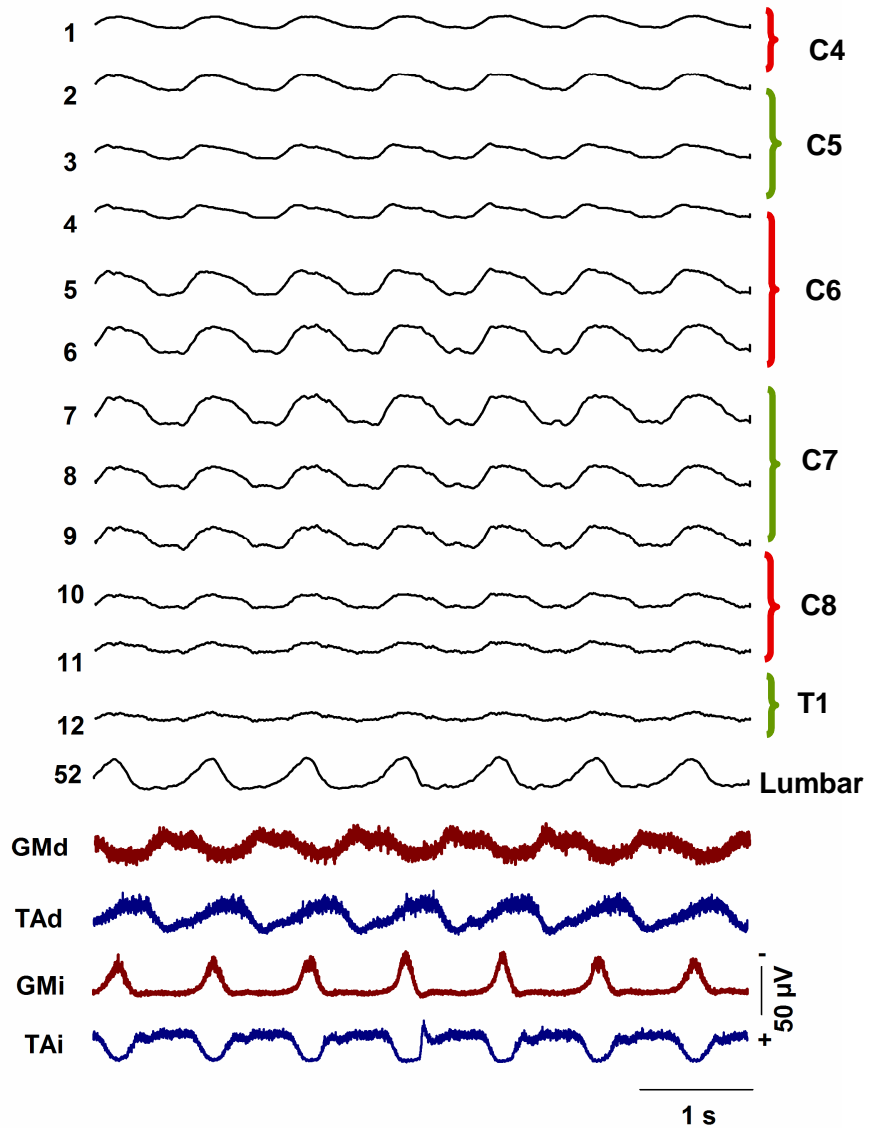


Figura 23. Ondas de potencial eléctrico sinusoidal registradas en segmentos cervico-torácicos (electrodos 1 a 12) y lumbares (electrodo 52). TAI, tibial anterior izquierdo; GMI, gastrocnemio medial izquierdo; TAd, tibial anterior derecho; GMd, gastrocnemio medial derecho

En la figura 24 se compara la actividad eléctrica sinusoidal registrada en segmentos cervico- torácicos con la registrada en segmentos lumbo-sacros durante la locomoción espontánea. En el primer panel se superpusieron los registros hechos usando los electrodos 7 y 37, los cuales, son electrodos ipsilaterales derechos. En el segundo panel se compararon los registros ipsilaterales izquierdos 19 y 53. En ambos casos se puede observar que las ondas sinusoidales cervico- torácicas están totalmente desfasadas con respecto a las ondas sinusoidales lumbo-sacras. Esto podría deberse a que las extremidades ipsilaterales se encuentran en una fase diferente (flexora o extensora) del ciclo locomotor.

En el tercer panel se compararon registros hechos con los electrodos contralaterales 7 y 53, y en el cuarto panel, los electrodos 37 y 19. En estos dos últimos casos las ondas sinusoidales lumbo-sacras se encuentran en fase con las ondas sinusoidales cervico- torácicas. Lo anterior podría atribuirse a que la extremidad torácica se encuentra en la misma fase (flexora o extensora) que la extremidad pélvica contralateral.

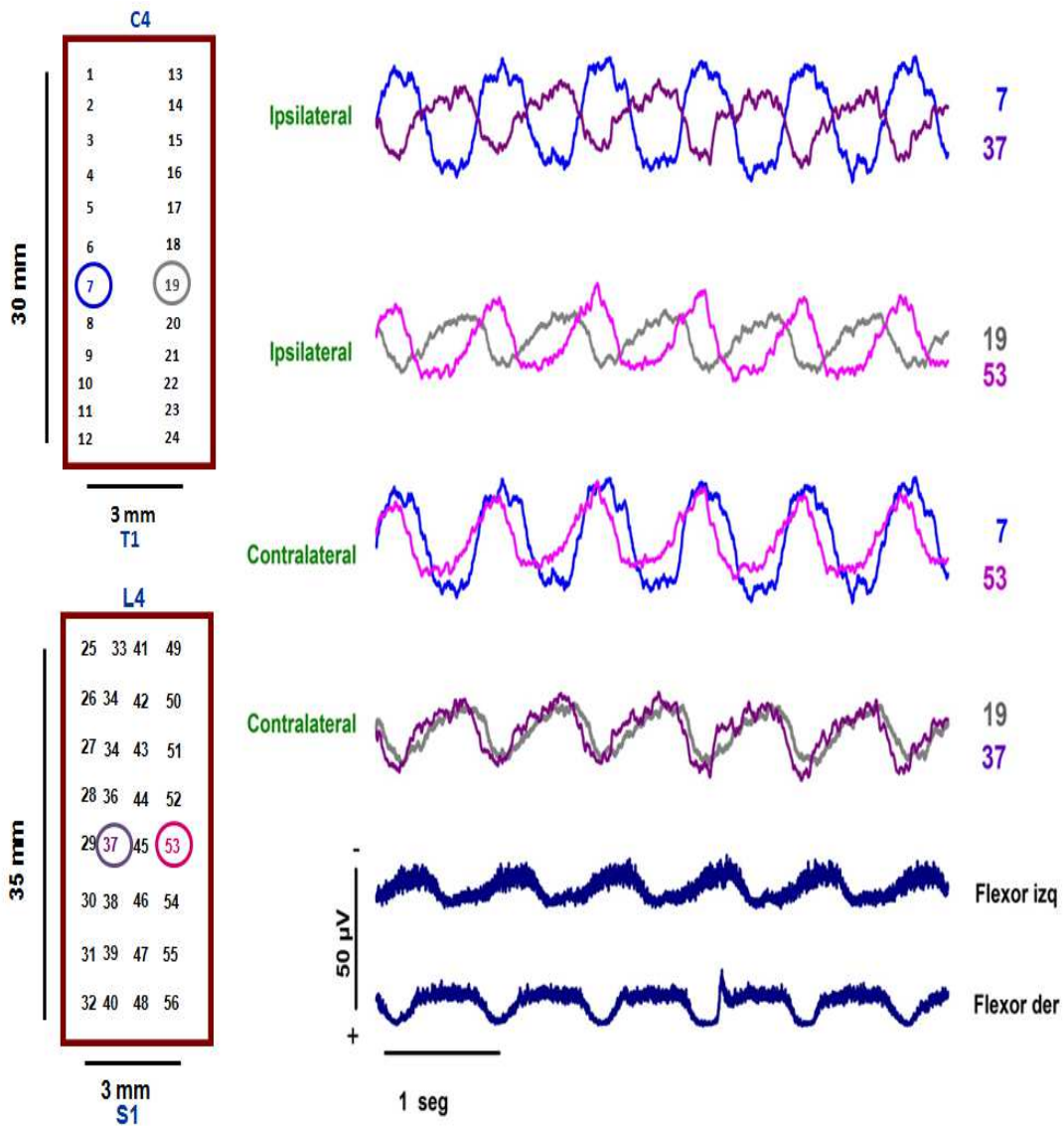


Figura 24. Comparación de las ondas de potencial eléctrico sinusoidales registradas en segmentos cervico- torácicos con las registradas en segmentos lumbosacros. En el primer y segundo panel se compara los electrodos ipsilaterales izquierdos 7 y 37, y derechos, 19 y 53. Además, se superponen los electrodos contralaterales 7 y 53 (tercer panel), y 19 y 37 (cuarto panel). Los registros de nervios flexores izquierdo y derecho se encuentran en azul en la parte inferior de la figura.

AMPLITUD MEDIA DE LOS POTENCIALES SINUSOIDALES DEL DORSO DE LA MÉDULA ESPINAL EN SEGMENTOS CERVICO-TORÁDICOS Y EN SEGMENTOS LUMBO-SACROS

Se realizó un análisis de la amplitud de los potenciales sinusoidales del dorso de la médula espinal registrados en un mismo experimento en segmentos cervico-torácicos y lumbo-sacros. En la figura 25 se ilustra un ejemplo de la forma en que se midió la amplitud de dichas ondas sinusoidales. Las líneas magenta indican la amplitud de las ondas sinusoidales cervico- torácicas. Las líneas azules ilustran la medición a nivel lumbo-sacro.

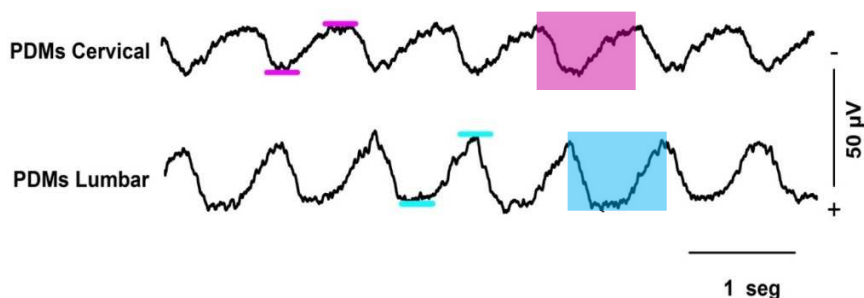


Figura 25. Medición de la amplitud de los potenciales del dorso de la médula espinal sinusoidales cervico- torácicos (líneas magenta), y lumbo-sacros (líneas azules). Los cuadros rosa y azul indican la duración del ciclo de estos potenciales.

Encontramos que las ondas de potencial eléctrico sinusoidal registradas en segmentos cervico- torácicos durante la locomoción ficticia espontánea exhiben una amplitud media de $57 \pm 13 \mu\text{V}$ (Todos los datos fueron expresados como

media \pm desviación estándar; figura 41C). En la figura 26A se presenta un histograma de frecuencias de dichas amplitudes.

La figura 26B es un histograma de frecuencias de la amplitud de los potenciales sinusoidales espinales registrados en segmentos lumbo- sacros. La amplitud media de dichos potenciales es de $63 \pm 20 \mu\text{V}$ (Figura 41C). Además, se llevó a cabo una prueba t-Student, y no se encontró diferencia significativa entre ambas amplitudes ($p = 0.362$; figura 26C).

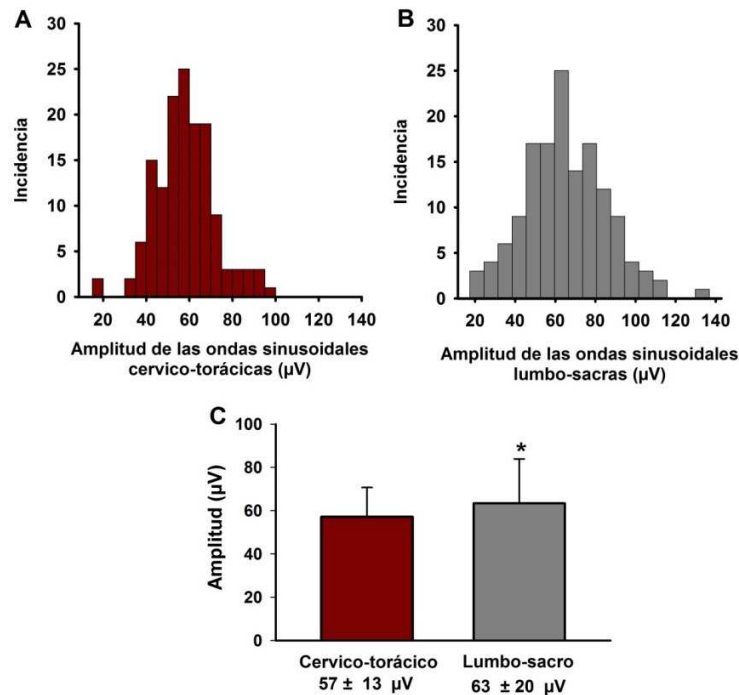


Figura 26. Histograma de frecuencias de la amplitud de las ondas de potencial eléctrico registradas durante la locomoción ficticia espontánea en segmentos: A) cervico- torácicos y B) lumbo-sacros. C) La amplitud media entre de los potenciales sinusoidales en A y B tiene una diferencia significativa ($n=150$, $T=- -0.976$, $p = 0.362$, prueba t-Student).

AMPLITUD MÁXIMA DE LOS POTENCIALES SINUSOIDALES CERVICO-TORÁDICOS

Se realizó un análisis la amplitud de los potenciales eléctricos sinusoidales registrados en segmentos cervico- torácicos durante la locomoción ficticia espontánea. Se encontró que dichas amplitudes se distribuyen a lo largo de los segmentos C4-T1.

La figura 27 es un ejemplo de estos experimentos. En la parte superior de esta figura se muestra la amplitud promedio de los potenciales sinusoidales registrados a lo largo de los segmentos C5-T1. La parte inferior de la figura es una reconstrucción histológica de la posición de cada electrodo de registro (puntos rojos y azules), además se muestra la reconstrucción histológica de la sustancia gris en cada segmento espinal. La flecha rosa señala al óbex y los puntos azules indican la localización de los electrodos con los cuales se registró la máxima actividad eléctrica. La máxima amplitud de las ondas de potencial eléctrico sinusoidal se registró a una distancia promedio de 5.7 ± 0.2 cm caudal al óbex (n= 5 gatos).

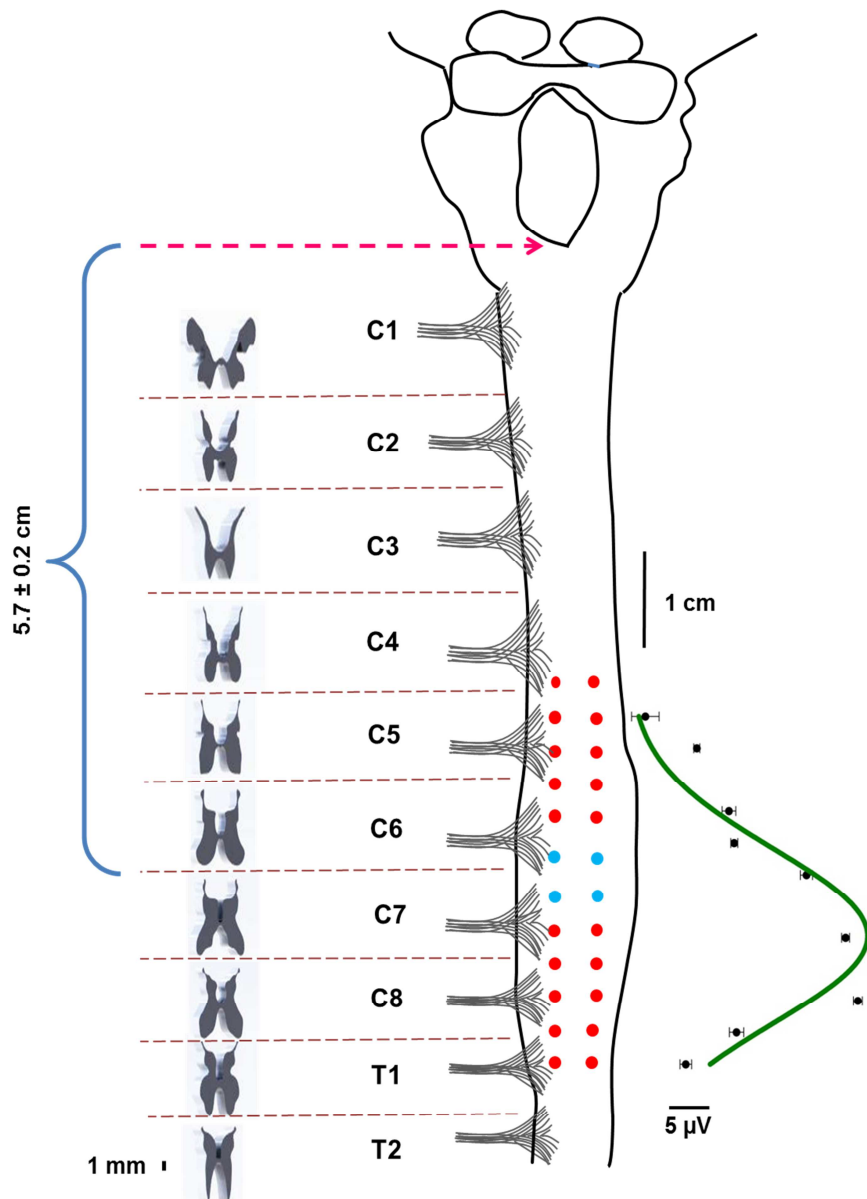


Figura 27. Reconstrucción histológica de la posición de los electrodos de registro (puntos verdes y azules) en segmentos cervico-torácicos de la médula espinal. La gráfica superior indica la distribución de la amplitud de las ondas sinusoidales registradas durante la locomoción ficticia espontánea para un experimento. La máxima amplitud de estos potenciales se registró 5.7 ± 0.2 cm caudal al óbex (entre C6 y C7). El panel inferior es una reconstrucción histológica de la sustancia gris en cada segmento espinal.

Asimismo, se encontró que la distribución de amplitudes de los potenciales sinusoidales registrados en el dorso de la médula espinal tiene una forma de “U” invertida. Dicha amplitud se distribuye a lo largo de los segmentos C4-T1 (ver barras superiores, figura 28). La figura 28 muestra la amplitud promedio en cinco experimentos registrada con los electrodos 1 a 8 (figura 28A) y 13 a 24 (figura 28B). Estos electrodos se colocaron respectivamente sobre el lado derecho e izquierdo de la médula espinal.

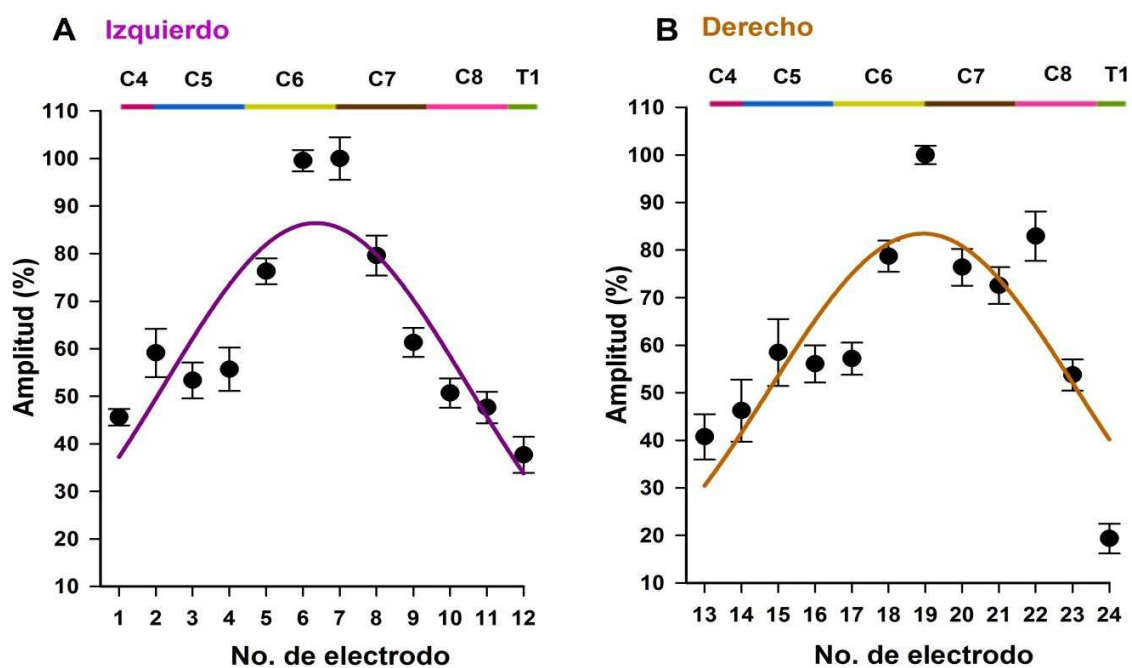


Figura 28. Amplitud promedio de las ondas de potencial eléctrico sinusoidales registradas en los segmentos espinales C4-T1. La amplitud se normalizó al 100% de la amplitud máxima registrada. Se aplicó un ajuste Gaussiano ($r=0.86$, $r=0.82$, respectivamente). Las barras de colores en la parte superior de la figura indican los segmentos espinales. A) Amplitud promedio registrada en los electrodos 1 a 12. B) Amplitud promedio registrada en los electrodos 13 a 24.

DURACIÓN DEL CICLO DE LAS ONDAS SINUSOIDALES REGISTRADAS EN LOS SEGMENTOS C4-T1 ESTÁ CORRELACIONADA CON LA DURACIÓN DEL CICLO DE LAS ONDAS SINUSOIDALES REGISTRADAS EN L4- S1

A continuación, se hizo una medición en cinco experimentos de la duración del ciclo de los potenciales eléctricos sinusoidales (Figura 29). Las duraciones de los ciclos de las ondas sinusoidales se graficaron y se ilustran en la figura 29. En el primer panel se graficó el ciclo de las ondas de potencial eléctrico sinusoidales lumbares registradas en el lado derecho de la médula espinal contra el ciclo de las ondas sinusoidales cervicales registradas en el lado izquierdo de la médula espinal. En el panel inferior se graficó la duración el ciclo de las ondas sinusoidales lumbares izquierdas contra la duración del ciclo de las ondas sinusoidales cervicales derechas. Posteriormente se realizó un análisis de correlación y se encontró que la duración del ciclo de los potenciales sinusoidales que se registran durante la locomoción ficticia espontánea, en los segmentos cervico- torácicos está altamente correlacionada con la duración del ciclo de los potenciales lumbo- sacros ($r=0.9$, $n=104$ ciclos, 6 gatos; figura 29).

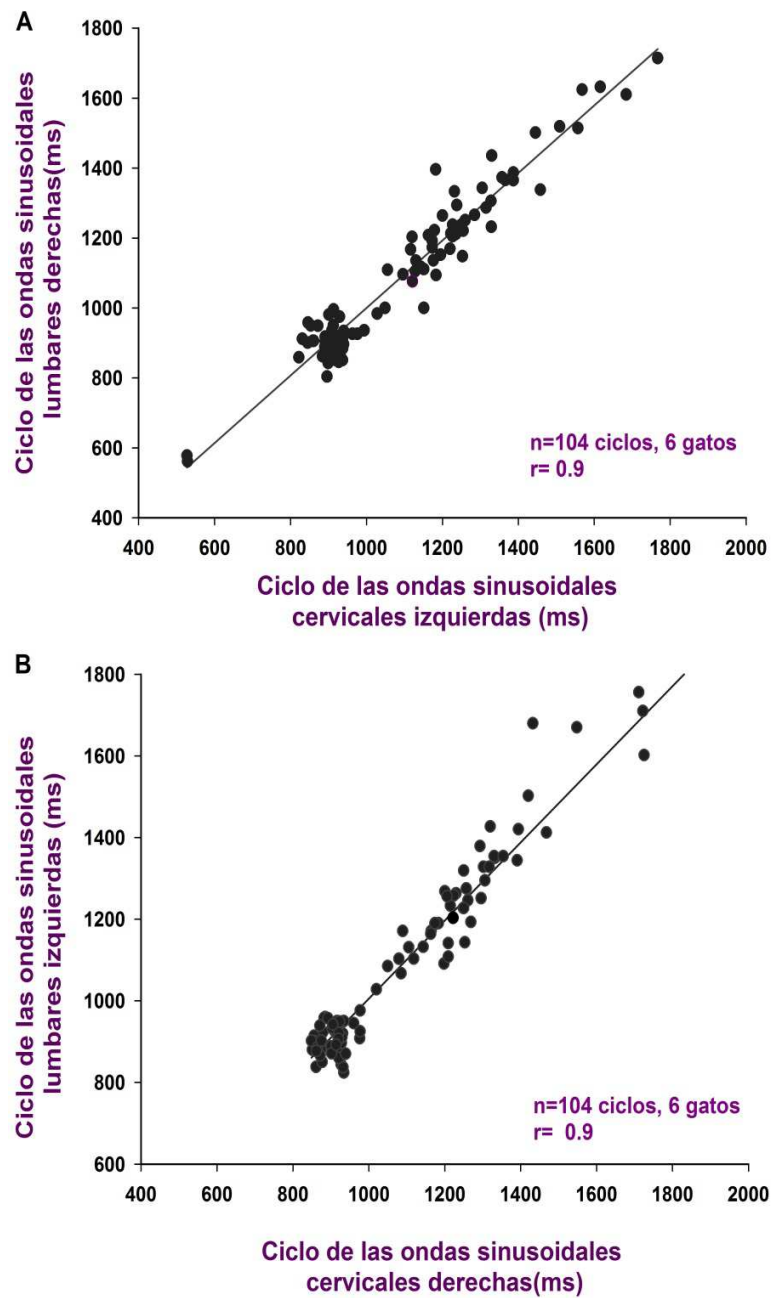


Figura 29. Análisis de correlación entre la duración del ciclo de las ondas de potencial eléctrico sinusoidales registradas en A) segmentos lumbares derechos y cervicales izquierdos y B) en segmentos lumbares izquierdos y cervicales derechos (n=104 ciclos, 6 gatos, r= 0.9).

Además de lo anteriormente descrito, realizamos un análisis de correlación entre la duración del ciclo de las ondas de potencial eléctrico sinusoidal registradas en el lado izquierdo y derecho de la médula espinal cervical (Figura 30) y entre la duración del ciclo de las ondas de potencial eléctrico sinusoidal registradas durante la locomoción ficticia espontánea en segmentos lumbares derechos contra las registradas en segmentos izquierdos (Figura 30B). En ambos casos encontramos una alta correlación en la duración de los ciclos ($r=0.9$, $n=104$ ciclos, 6 gatos; figura 27). Asimismo, en la figura 31 se ilustra un histograma de frecuencias del ciclo de las ondas de potencial eléctrico sinusoidal registradas simultáneamente durante la locomoción ficticia espontánea en segmentos cervicales izquierdos (Figura 31A), cervicales derechos (Figura 31B), lumbares izquierdos (figura 28C) y lumbares derechos (Figura 31D). A estos datos se les aplicó una prueba ANOVA y no se encontró diferencia significativa ($F=0.430$, $p=0.732$) entre la duración media de los mencionados ciclos (Figura 31, panel inferior).

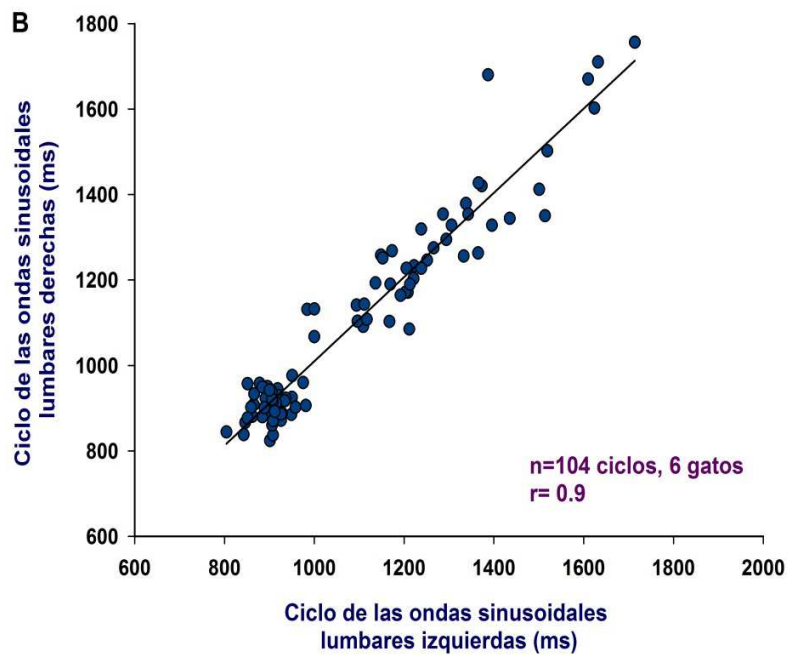
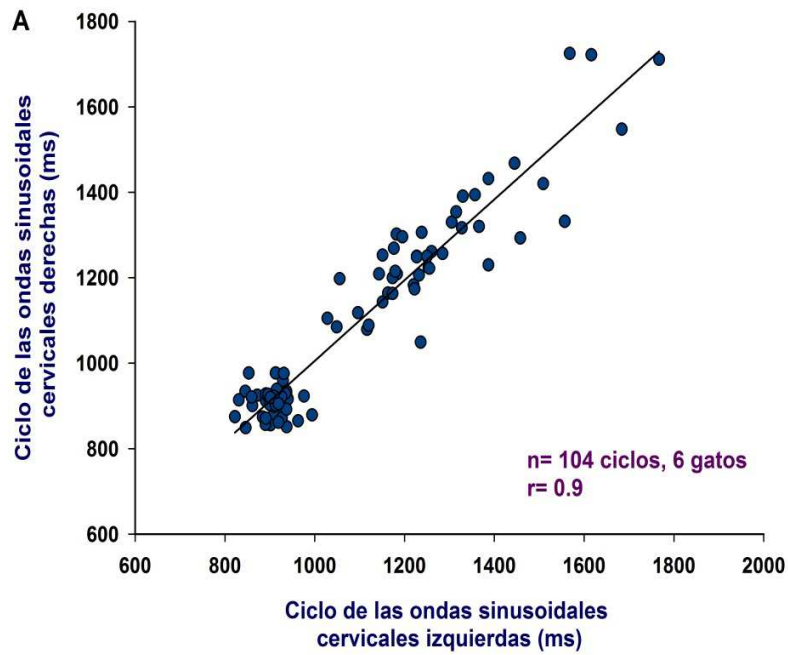


Figura 30. Análisis de correlación entre la duración del ciclo de las ondas de potencial eléctrico sinusoidales registradas en A) segmentos cervicales izquierdos y derechos y B) en segmentos lumbares izquierdos y derechos ($r= 0.9$).

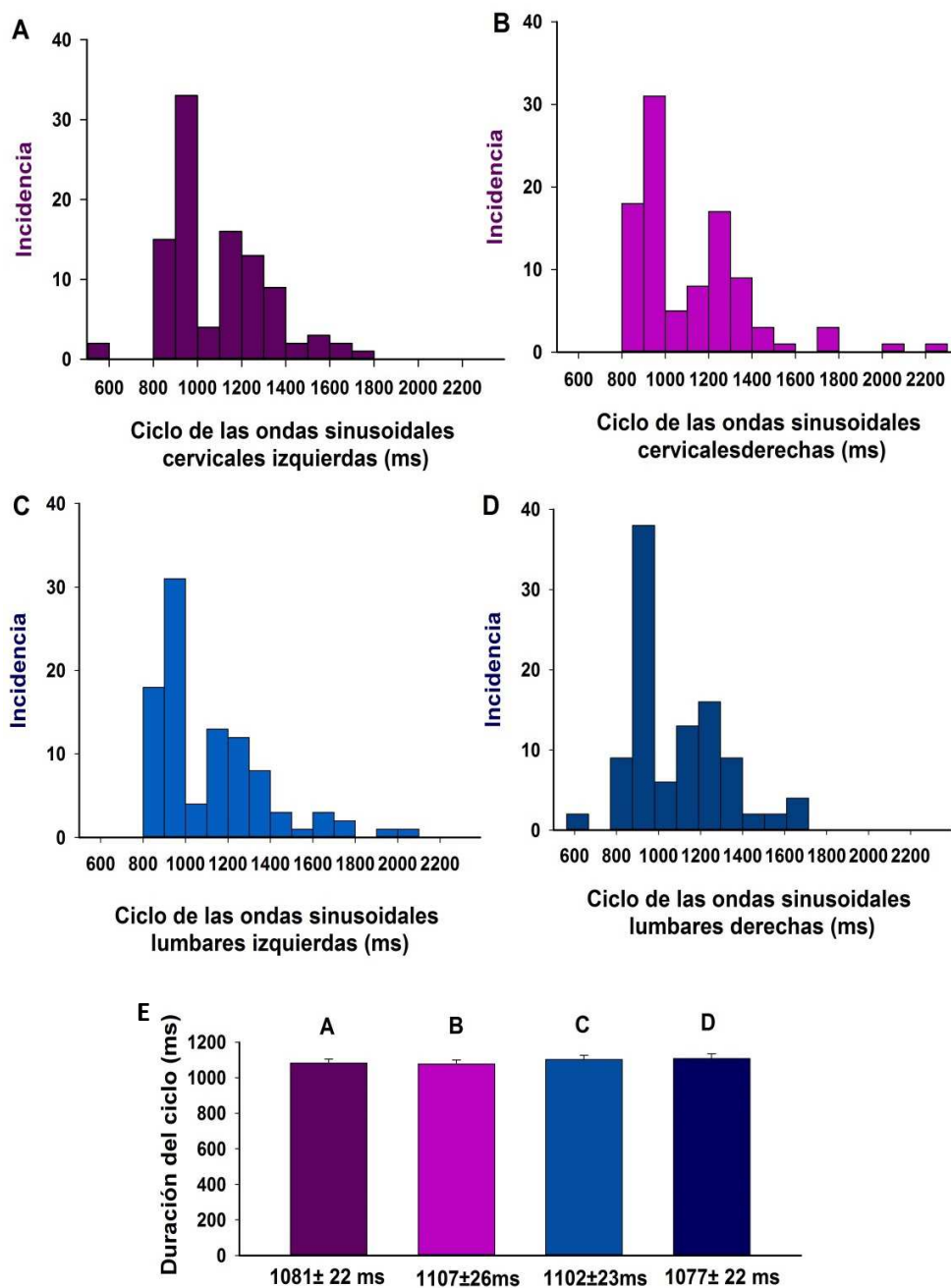


Figura 31. Histograma de frecuencias de la duración del ciclo de las ondas de potencial eléctrico sinusoidal registradas durante la locomoción ficticia espontánea registradas en segmentos espinales A) cervicales izquierdos, B) cervicales derechos, C) lumbares izquierdos, d) lumbares derechos. E) existe diferencia significativa entre la duración de los mencionados ciclos (ANOVA, $F=0.430$, $p=0.732$).

LA FRECUENCIA DE LAS ONDAS SINUSOIDALES REGISTRADAS EN SEGMENTOS CERVICO-TORÁDICOS ES SIMILAR QUE LAS REGISTRADA EN SEGMENTOS LUMBOSACROS

Se realizó un análisis de la frecuencia en la que oscilan las ondas de potencial eléctrico sinusoidales registradas durante la locomoción ficticia espontánea. Se calcularon espectros de potencia y encontramos que la frecuencia de los potenciales sinusoidales cervico- torácicos es similar que la de los potenciales sinusoidales lumbo-sacros. La figura 32 (A-C) ilustra el resultado de tres experimentos. Los paneles izquierdos muestran los espectros de potencia de las ondas sinusoidales cervico-torácicas. Los paneles derechos, son los espectros de potencia de las ondas sinusoidales lumbo-sacras. La frecuencia promedio de los potenciales sinusoidales registrados en la médula espinal cervical fue de 0.91 ± 0.1 Hz y de los registrados a nivel lumbar fue de 0.86 ± 0.1 Hz. No encontramos diferencia significativa entre ambas frecuencias ($p=0.37$, $t = 0.355$, prueba t-Student).

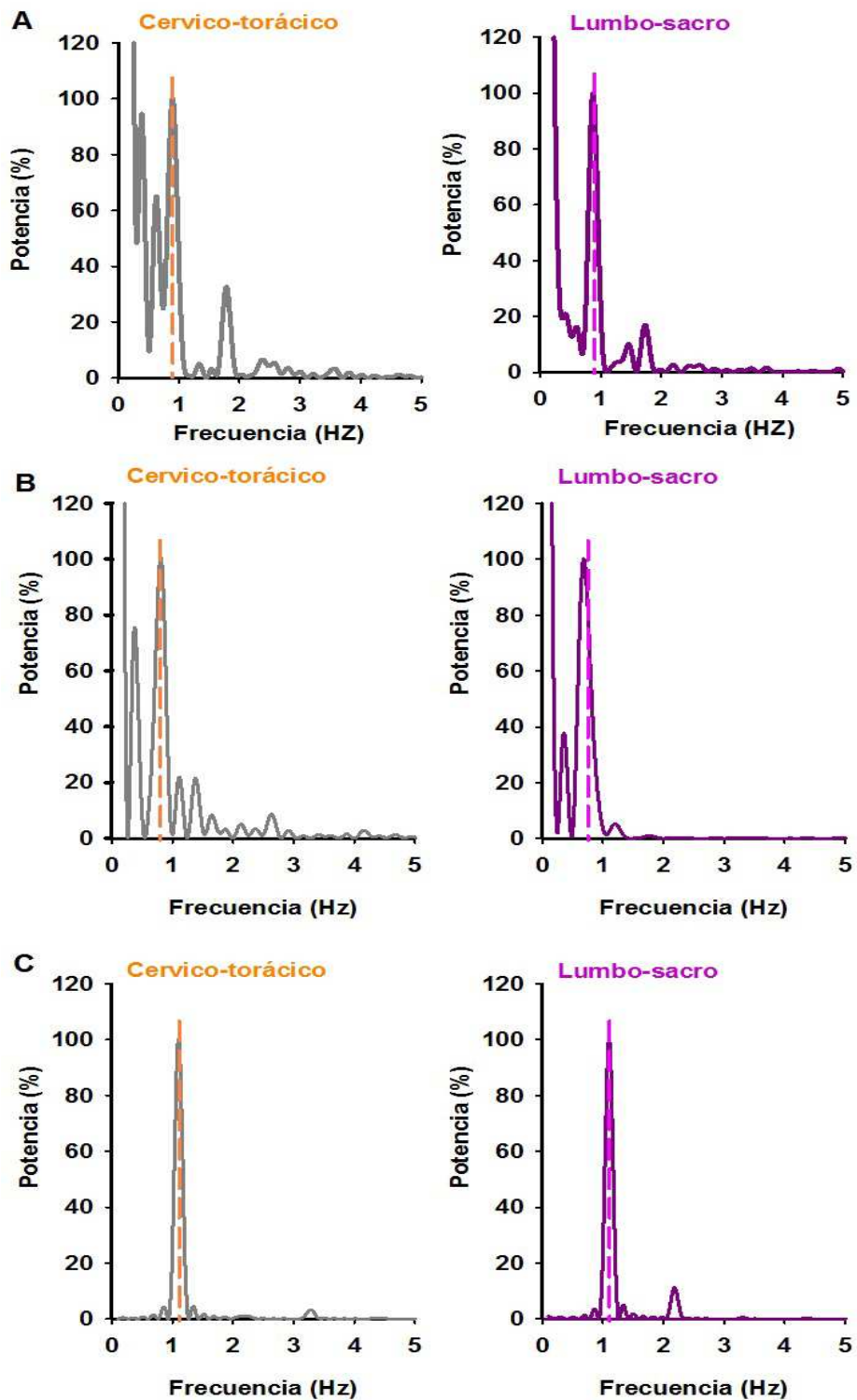


Figura 32. Espectros de potencia de las ondas de potencial eléctrico sinusoidales registrados en segmentos cervico- torácicos (panel izquierdo) y lumbo-sacos (panel derecho) durante la locomoción ficticia espontánea en tres experimentos (A, B, C).

LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO

En catorce experimentos se realizó una descerebración a nivel precolicular-premamilar. En estos experimentos, se aplicó curare tópicamente en la superficie dorsal de la médula espinal en los segmentos C1-C2. Encontramos que después de la aplicación del fármaco la locomoción espontánea se abole. Sin embargo, el episodio de rascado ficticio es seguido de un episodio de actividad locomotora. A éste fenómeno lo denominamos locomoción ficticia post-rascado.

La figura 33 ilustra un ejemplo de estos experimentos. El episodio de rascado ficticio fue inducido por la estimulación del pabellón auricular. Obsérvese el registro de las ondas de potencial eléctrico sinusoidal (registro superior) y los patrones flexores y extensores de la actividad electroneurográfica durante ambas tareas motoras.

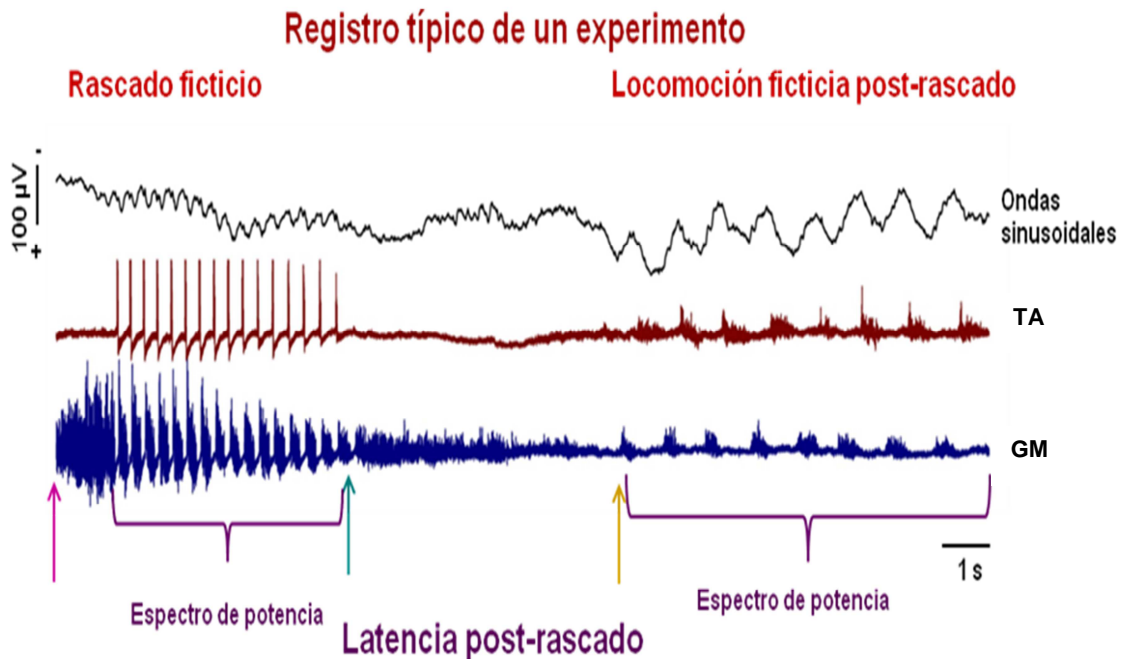


Figura 33. Registro de un episodio de rascado ficticio seguido de un episodio de locomoción ficticia post-rascado. Las flechas rosa y amarilla indican el inicio del episodio de rascado y del episodio de locomoción post-rascado respectivamente. La flecha azul indica el fin del episodio de rascado. En esta figura también se indican los intervalos usados para calcular espectros de potencia y la latencia post-rascado. TA, tibial anterior, GM, gastrocnemio medial.

LATENCIA ENTRE EL EPISODIO DE RASCADO FICTICIO Y EL INICIO DEL EPISODIO DE LA LOCOMOCION POST-RASCADO

En catorce experimentos se observó la ocurrencia de la locomoción ficticia post-rascado. La figura 34 es una gráfica de “rastros de actividad” de los ciclos de rascado y de locomoción ficticia post-rascado. Cada punto representa el final de la

actividad flexora durante el rascado y el inicio de la actividad flexora durante la locomoción post-rascado. La línea magenta en la figura 34 indica el final del episodio de rascado. Además, en la figura 35 se ilustra un ejemplo de 20 rastros de ciclos de rascado seguidos le locomoción post-rascado. Los triángulos indican el inicio de la locomoción.

Se encontró que las ondas eléctricas sinusoidales registradas durante el rascado ficticio en ningún momento se superponen a las registradas durante la locomoción ficticia espontánea. Además, se midió la latencia entre el inicio del episodio de rascado y el inicio del episodio de locomoción post-rascado. Dicha latencia fue de 17 ± 1 s. Asimismo, se midió la latencia entre el final del episodio de rascado (flecha azul, figura 33) y el inicio del episodio de locomoción post-rascado (flecha amarilla, figura 33). A esta latencia se le denominó latencia post-rascado y obtuvimos una media de 7 ± 1 s (media \pm error estándar) en diez experimentos. Las latencias promedio por experimento se muestran en la Tabla 2.

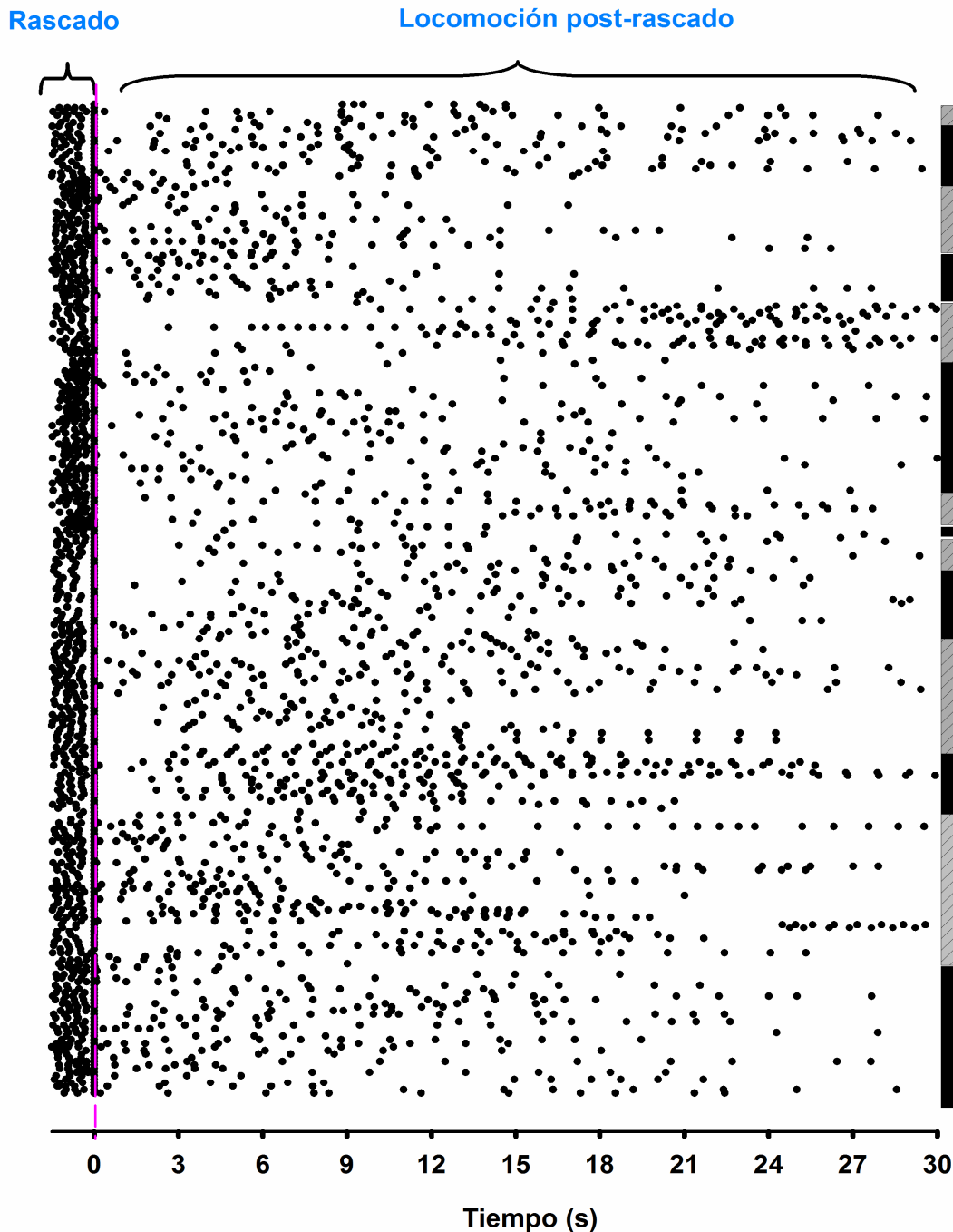


Figura 34. Datos agrupados de catorce experimentos. Cada renglón indica un episodio de rascado ficticio seguido de un episodio de locomoción ficticia post-rascado. Cada punto representa el final de la descarga flexora durante el rascado y el inicio de la descarga flexora durante la locomoción. El cero (línea magenta) corresponde al final del episodio de rascado ficticio, el cual se usó como referencia. Dicha referencia permitió medir la latencia post-rascado.

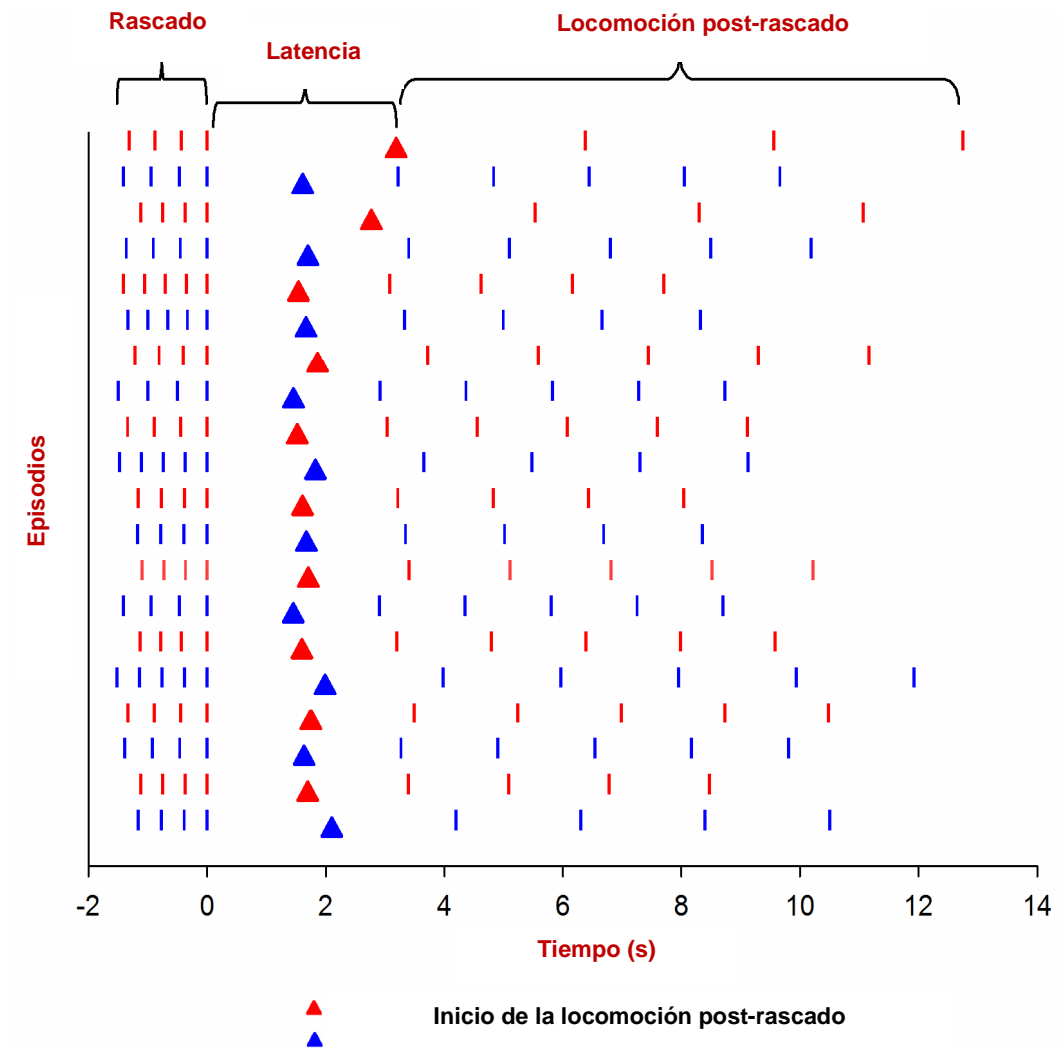


Figura 35. Ejemplos de gráficas de rastros para la actividad rítmica flexora durante los episodios de rascado y la subsecuente locomoción post-rascado. Cada línea vertical representa el final de la descarga del nervio TA y el inicio de la misma durante la locomoción post-rascado. Todos los episodios fueron alineados en 0. Los triángulos indican el inicio de la locomoción post-rascado.

Tabla 2. Latencias promedio entre el inicio y fin del episodio de rascado ficticio al inicio del episodio de locomoción ficticia post-rascado (media \pm error estándar).

Número de Experimento	Latencia entre el inicio del rascado ficticio y el inicio de la locomoción ficticia post-rascado	Latencia entre el fin del episodio de rascado ficticio y el inicio de la locomoción ficticia post-rascado (latencia post-rascado)
1	10.2 \pm 1 s	3.1 \pm 1.0 s
2	21.7 \pm 1 s	8.5 \pm 1.0 s
3	13.7 \pm 2 s	4.5 \pm 0.6 s
4	22.1 \pm 1 s	6.4 \pm 1.0 s
5	13.5 \pm 4 s	5.3 \pm 0.6 s
6	18.3 \pm 3 s	11 \pm 2.0 s
7	16.4 s	11.1 s
8	21.0 \pm 6 s	3.0 \pm 0.4 s
9	13.0 \pm 5 s	3.8 \pm 0.8s
10	20.2 \pm 3 s	12 \pm 1.0 s
11	10.5 \pm 1 s	2.7 \pm 1.0 s
12	9.8 \pm .9 s	2.7 \pm 0.5 s
13	22.1 \pm 7 s	9.3 \pm 5.3 s
14	13.1 \pm 1.3 s	3.5 \pm .6 s
Media	16.1 \pm 4.66.2 s	6.2 \pm 3.5 s

PORCENTAJE DE EPISODIOS DE LOCOMOCIÓN POST-RASCADO RESPECTO AL TOTAL DE EPISODIOS DE RASCADO

En 14 experimentos determinamos el porcentaje de episodios de locomoción post-rascado que siguen a los episodios de rascado ficticio. Se encontró que dicho porcentaje es de 73.8 \pm 5.9 % (media \pm error estándar). El total de episodios de rascado ficticio y de episodios de locomoción post-rascado se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Número de episodios de rascado ficticio y de locomoción ficticia post-rascado registrados en 14 experimentos.

	Total de episodios de rascado	Total de episodios de locomoción post-rascado	Porcentaje (%)
Exp 1	45	40	88.8
Exp 2	44	40	90.9
Exp 3	16	14	87.5
Exp 4	39	32	82.0
Exp 5	26	16	61.5
Exp 6	12	11	91.6
Exp 7	5	1	20
Exp 8	20	8	40
Exp 9	62	34	54.8
Exp 10	16	15	93.7
Exp 11	17	13	76.4
Exp 12	22	18	81.8
Exp 13	4	3	75
Exp 14	20	18	90
Promedio			73.8± 5.9 %

COMPARACIÓN ENTRE LA DURACIÓN MEDIA DE LOS CICLOS DE RASCADO FICTICIO Y LA DURACIÓN DE LOS CICLOS DE LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO

Como siguiente punto realizamos un análisis de la duración de los ciclos de la locomoción ficticia post-rascado y los comparamos con los ciclos de rascado ficticio.

En la figura 36 se indica como se hizo la medición de dichos ciclos. Las líneas azules indican los sitios de medición para los episodios de rascado ficticio (del inicio de la descarga flexora al inicio de la siguiente descarga), asimismo, las

líneas magenta indican una medición semejante pero durante los ciclos de locomoción ficticia post-rascado.

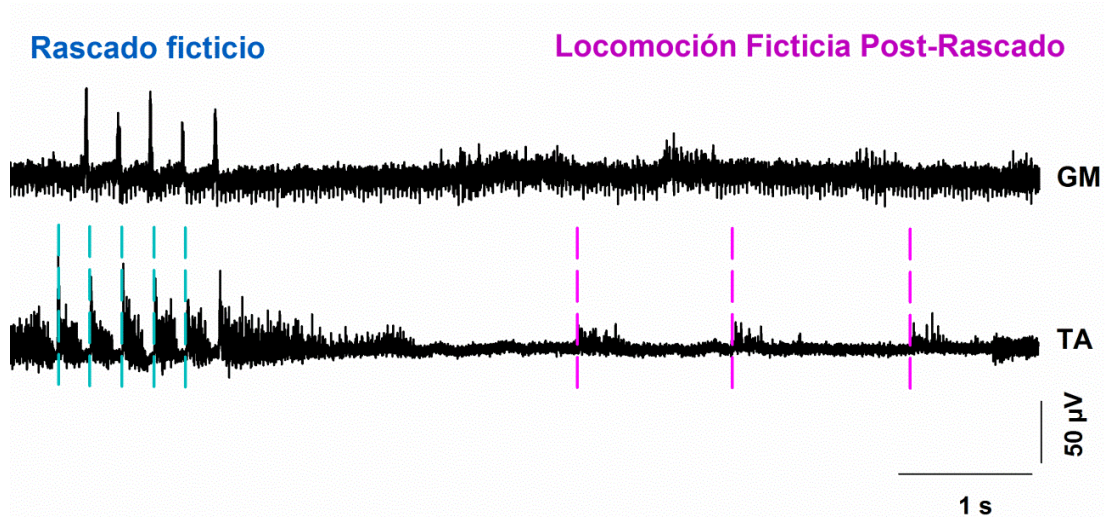


Figura 36. Episodio de rascado ficticio seguido de un episodio de locomoción ficticia post-rascado. Las líneas azules y las líneas magenta indican como se realizó la medición del ciclo durante cada actividad motora. GM, gastrocnemio, TA, tibial anterior.

En la Figura 37A se muestran los histogramas de frecuencia de la duración de A) los ciclos de rascado ficticio ($n= 490$ ciclos, 14 gatos) y B) de los ciclos de locomoción ficticia post-rascado ($n=320$ ciclos, 14 gatos), encontrándose que los primeros presentan una incidencia mayor alrededor de los 0.4 segundos con una duración media de 0.38 ± 0.005 s (media \pm error estándar), mientras que los ciclos de locomoción post-rascado tienen una mayor incidencia en 1 segundo con una media de 1.6 ± 0.05 s (media \pm error estándar). Asimismo, realizamos una prueba

t-Student, encontrándose una diferencia significativa entre la duración media de ambos ciclos ($p < 0.001$, figura 37C).

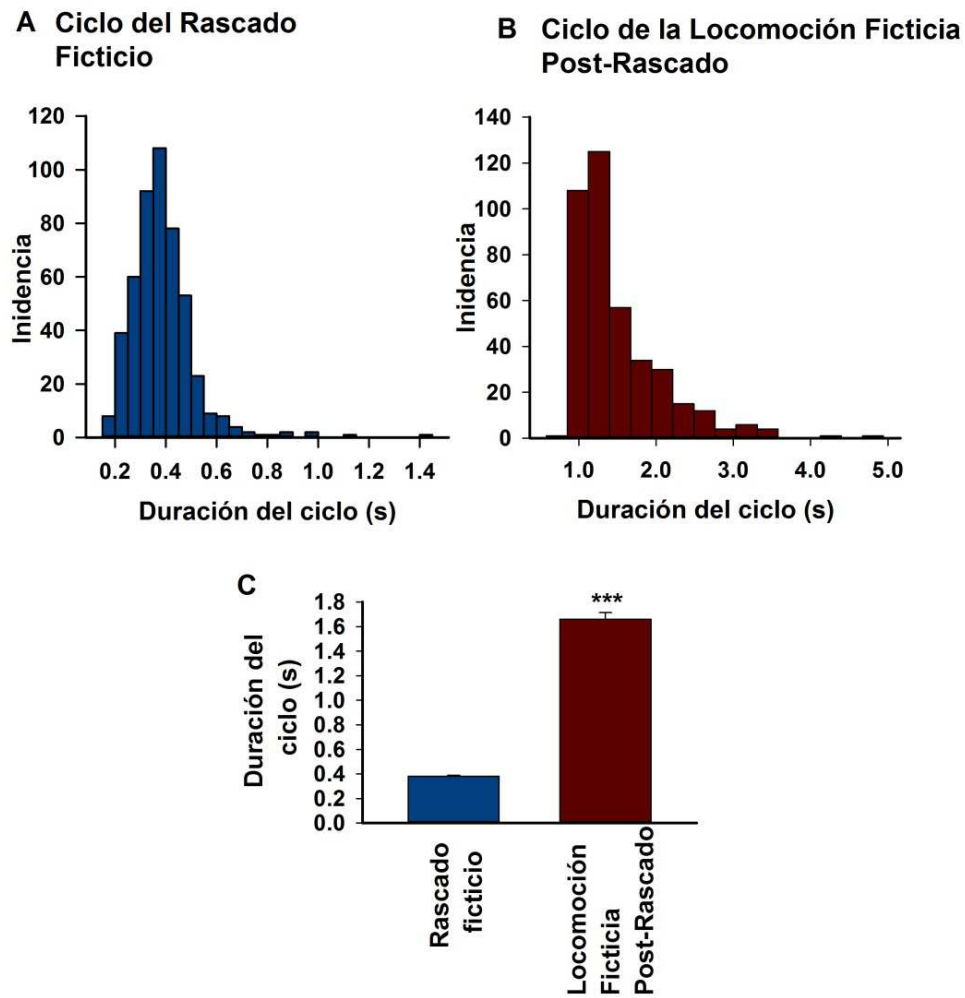


Figura 37. Histograma de frecuencias de la duración de los ciclos de A) rascado ficticio y de B) locomoción ficticia post-rascado. C) Se encontró una diferencia significativa entre la duración media de ambos ciclos ($n_{\text{rascado ficticio}}=792$, $n_{\text{locomoción post-rascado}}=789$, $t=-26.628$, $*** p < 0.001$, prueba t-Student).

COMPARACIÓN ENTRE LA FRECUENCIA INSTANTÁNEA DE LOS CICLOS DE RASCADO FICTICIO Y LOS CICLOS DE LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO

En nuestros experimentos calculamos la frecuencia instantánea de los ciclos de rascado ficticio y los comparamos con la frecuencia instantánea de los ciclos de locomoción ficticia post-rascado. En la figura 38A se muestra la frecuencia instantánea de los últimos ocho ciclos de los episodios de rascado ficticio, y en la figura 38B la frecuencia instantánea de los primeros ocho ciclos de locomoción ficticia post-rascado. Posteriormente, realizamos una prueba ANOVA y una prueba de Tuckey. Encontramos diferencia significativa en todas las frecuencias instantáneas de los ciclos de rascado ficticio con respecto aquellas de locomoción ficticia post-rascado.

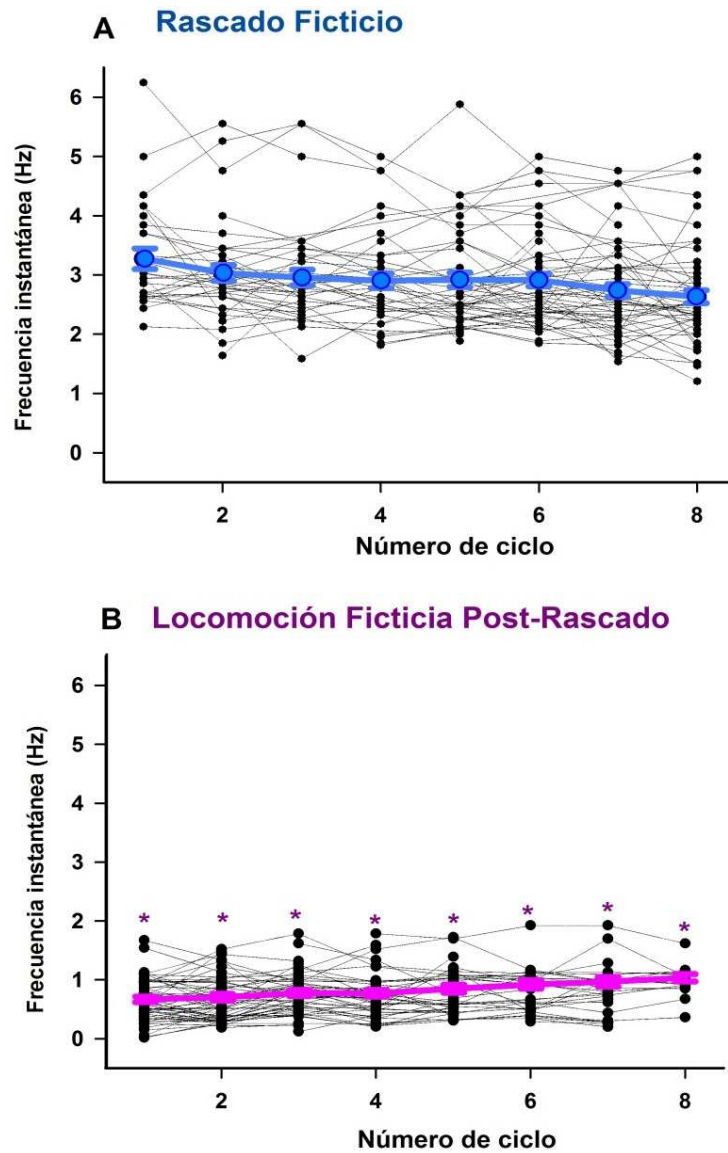


Figura 38. Frecuencia instantánea de los ciclos de A) rascado ficticio y B) locomoción ficticia post-rascado. ($n_{\text{rascado ficticio}}=61$, $n_{\text{locomoción post-rascado}}=46$; $Q_{\text{ciclo1}}= 23.183$, $Q_{\text{ciclo2}}= 22.780$, $Q_{\text{ciclo3}}= 20.508$, $Q_{\text{ciclo4}}= 23.326$, $Q_{\text{ciclo5}}= 18.670$, $Q_{\text{ciclo6}}= 17.091$, $Q_{\text{ciclo7}}= 14.668$, $Q_{\text{ciclo8}}= 10.846$; * $p<0.001$, prueba de Tukey, posterior a ANOVA).

MEDICIÓN DEL CICLO DE TRABAJO Y DE LA AMPLITUD DE LAS DESCARGAS DE NERVIOS FLEXORES Y EXTENSORES DURANTE LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO

En los experimentos en los cuales registramos episodios de locomoción post-rascado hicimos una medición la amplitud de las descargas de los nervios flexores y extensores. La forma en que dichas amplitudes fue medida se muestra en la figura 39, las flechas azules indican la amplitud de la descarga del nervio extensor y las flechas rojas indican la amplitud de la descarga en el nervio flexor. En 14 experimentos, encontramos que la amplitud media de la descarga flexora fue de $21.8 \pm 5.3 \mu\text{V}$ y de la descarga extensora de $15.5 \pm 3.4 \mu\text{V}$.

Por otra parte realizamos una medición del ciclo de trabajo flexor y extensor; el ciclo de trabajo se define como la razón entre la duración de la fase y la duración del ciclo (ciclo de trabajo= duración de la fase/ duración del ciclo). Los recuadros rojo y verde en la figura 39 ilustran la medición del ciclo de trabajo extensor y flexor, Para todos los experimentos tuvo un promedio de $50 \pm 3 \%$ y $50 \pm 10 \%$ respectivamente.

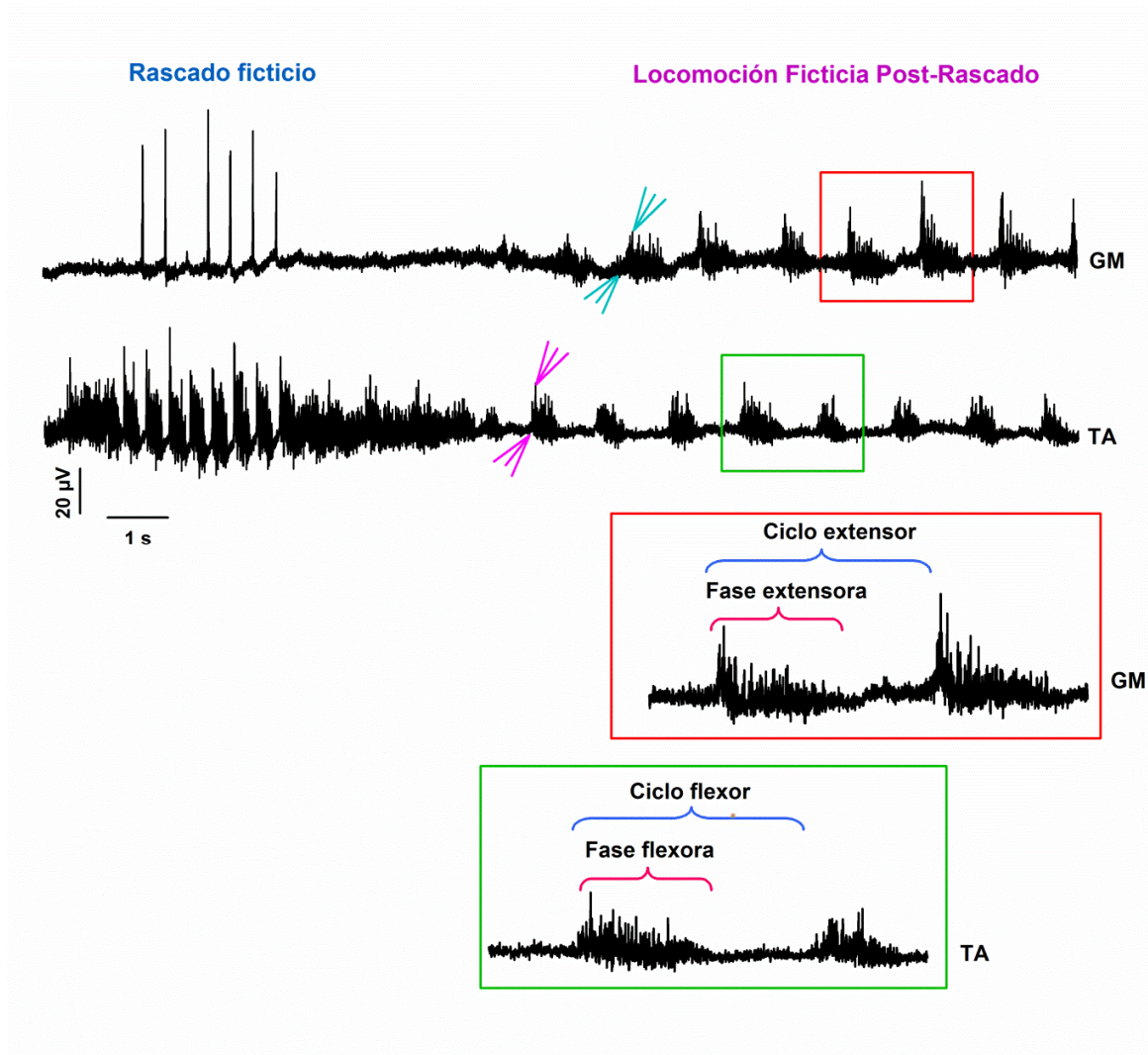


Figura 39. Registro de un episodio de locomoción post-rascado después de un episodio de rascado. Las flechas azules y rosas indican la forma en que se midió la amplitud de las descargas extensoras y flexoras. Los recuadros rojo y verde ilustran la medición del ciclo de trabajo flexor y extensor (ciclo de trabajo= duración de la fase/ duración del ciclo).GM, gastrocnemio; TA, tibial anterior.

FRECUENCIA DE LAS ONDAS SINUSOIDALES REGISTRADAS DURANTE EL RASCADO FICTICIO Y LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO

Se realizó un análisis de la frecuencia del potencial del dorso de la médula espinal sinusoidal registrado durante cada una de las dos tareas rítmicas. En éste contexto, se calcularon espectros de potencia de las ondas eléctricas sinusoidales espinales durante el rascado ficticio y la locomoción post-rascado registradas en el mismo experimento. En la figura 40 se ilustra un ejemplo de los episodios tomados para llevar a cabo éste análisis. El recuadro azul indica las ondas sinusoidales registradas durante el rascado ficticio, de las cuales se calculó la frecuencia. De la misma manera el cuadro rojo muestra las ondas de potencial eléctrico sinusoidal registradas durante la locomoción ficticia post-rascado, a las que también se calculó su frecuencia.

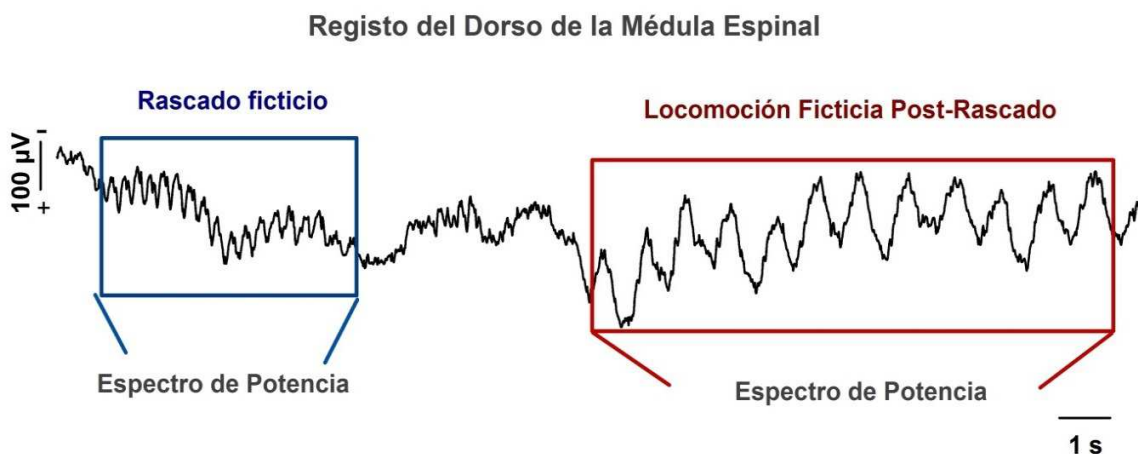


Figura 40. Ondas de potencial eléctrico sinusoidal registradas durante el rascado ficticio (cuadro azul) y durante la locomoción ficticia post-rascado (cuadro rojo). Los recuadros indican los períodos usados para calcular espectros de potencia.

Durante los episodios de rascado ficticio, se obtuvieron espectros de potencia con un pico en el rango de 2.6 a 5.2 Hz (Figura 41A), sin exhibirse un pico en el rango de la locomoción ficticia (que ocurre en ausencia de rascado a una frecuencia aproximada de 0.9 Hz, Figura 41B). Los resultados de las frecuencias calculadas para cinco experimentos se muestran en la tabla 4. Además encontramos que existe diferencia significativa entre la frecuencia promedio de las ondas de potencial eléctrico sinusoidales registradas durante el rascado ficticio y la locomoción ficticia post-rascado (t-Student, $p < 0.001$, figura 42).

Tabla 4. Frecuencia promedio de las ondas de potencial eléctrico sinusoidal registradas en el dorso de la médula espinal durante el rascado ficticio y la locomoción ficticia post-rascado (media \pm error estándar).

No. de experimento	Frecuencia del PDM sinusoidal durante el rascado ficticio	Frecuencia del PDM sinusoidal durante la locomoción ficticia post-rascado
1	3.4 Hz	0.3 Hz
2	3.0 Hz	1.2 Hz
3	2.7 Hz	1.3 Hz
4	3.5 Hz	0.8 Hz
5	2.6 Hz	0.7 Hz
6	2.7 Hz	1.1 Hz
7	2.9 Hz	0.3 Hz
8	5.1 Hz	0.3 Hz
9	5.0 Hz	0.4 Hz
10	3.6 Hz	1.2 Hz
11	4 Hz	1.1 Hz
12	5.2 Hz	1.8 Hz
13	3.5 Hz	1.1 Hz
14	3.1 Hz	1.2 Hz
Media	3.5 \pm 0.2 Hz	0.9 \pm 0.1 Hz

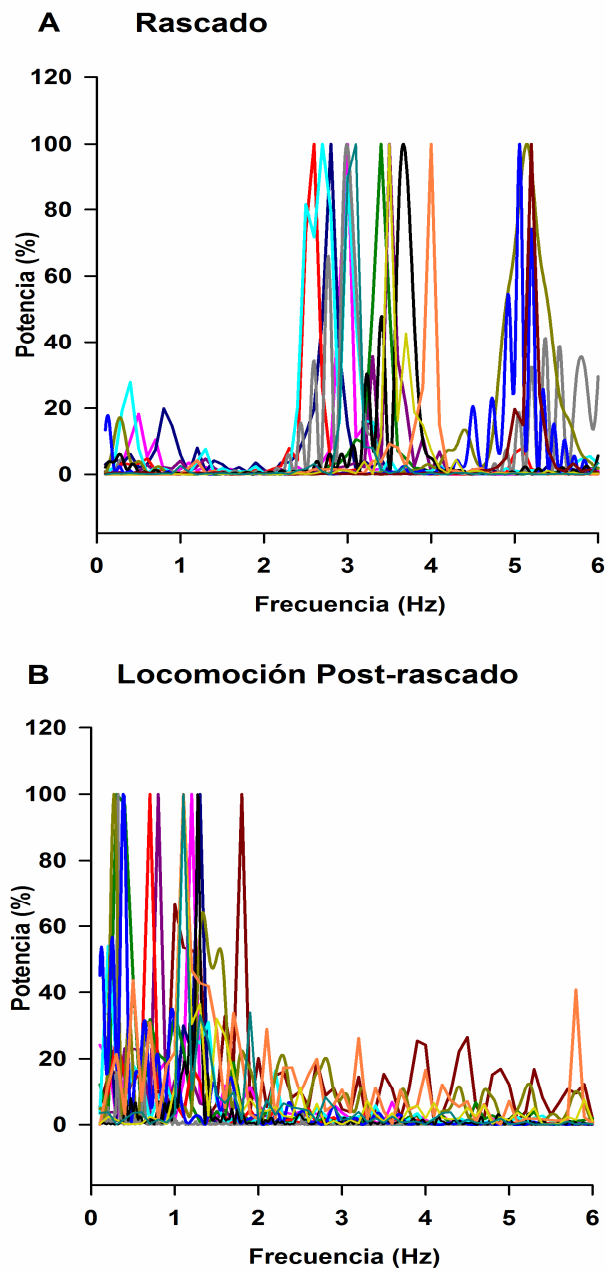


Figura 41. Espectros de potencia de las ondas de potencial eléctrico sinusoidal registradas durante el rascado ficticio (paneles izquierdos) y la locomoción ficticia post-rascado (paneles derechos) calculados para diferentes experimentos, cada color indica el promedio de un experimento.

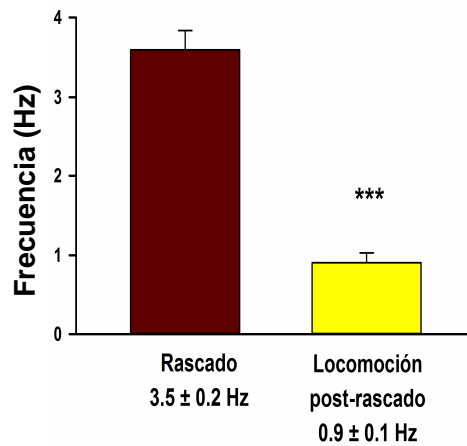


Figura 42. Existe diferencia significativa entre la frecuencia promedio de las ondas de potencial eléctrico sinusoidales registradas durante el rascado ficticio y registradas durante el rascado ficticio y la locomoción post-rascado ($n_{\text{rascado ficticio}}=14$, $n_{\text{locomoción post-rascado}}=14$, $t=-9.589$, $*** p < 0.001$, prueba t-Student).

DISTRIBUCIÓN INTERSEGMENTAL DE LA AMPLITUD DE LAS ONDAS DE POTENCIAL ELÉCTRICO SINUSOIDALES REGISTRADAS EN LA MÉDULA ESPINAL DURANTE EL RASCADO FICTICIO Y LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO

Para determinar la distribución de la amplitud de los potenciales sinusoidales del dorso de la médula espinal se midió la amplitud máxima registrada en cada electrodo y se graficó contra el número de electrodo (ver arreglo experimental figura 43A. En la figura 43B se muestran los electrodos de registro 1 al 8, graficados contra la amplitud normalizada de la onda de potencial eléctrico sinusoidal que se registra en cada uno de ellos durante el rascado ficticio (triángulos negros) y la locomoción ficticia post-rascado (triángulos rosas). En la figura 43C se muestra la amplitud normalizada de las mencionadas ondas de potencial eléctrico sinusoidales, registrada con los electrodos 25 a 32. Como se observa en la figura, se encontró que los potenciales eléctricos

sinusoidales registrados durante la locomoción ficticia post-rascado se distribuyen a lo largo de los segmentos espinales L4-S1, exhibiéndose una mayor amplitud en el segmento espinal L6. Además, encontramos diferencia significativa en las amplitudes de los PDMs registrados durante rascado y locomoción post-rascado en los electrodos 8 ($p < 0.05$, prueba t-Student) y 32 ($p < 0.05$, prueba t-Student).

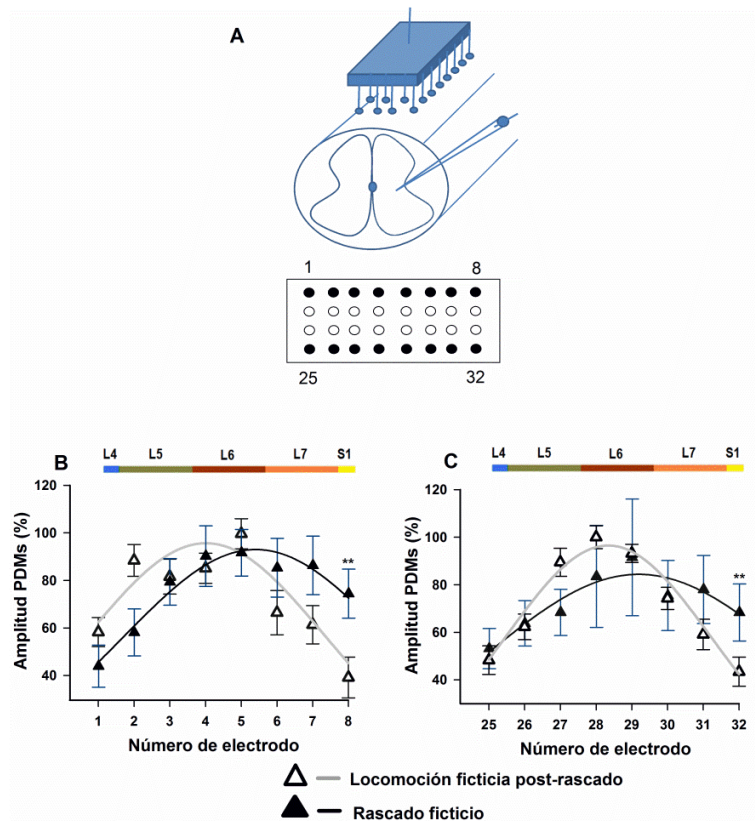


Figura 43. Amplitud de los potenciales sinusoidales del dorso de la médula espinal (PDMs) registrados durante el rascado ficticio (triángulos negros) y la locomoción ficticia post-rascado (triángulos blancos) en relación con el electrodo de registro. A) Arreglo experimental. B) Registros correspondientes a los electrodos 1 al 8. C) Registros correspondientes a los electrodos 25 al 32. Existe diferencia significativa en la amplitud de los PDMs registrados en los electrodos 8 ($n_{\text{rascado ficticio}}=26$, $n_{\text{locomoción post-rascado}}=16$, $t=-2.702$, $p < 0.05$, prueba t-Student) y 32 ($n_{\text{rascado ficticio}}=32$, $n_{\text{locomoción post-rascado}}=30$, $t=-2.159$, $p < 0.05$, prueba t-Student)

PROPAGACIÓN DE LOS POTENCIALES DEL DORSO DE LA MÉDULA SINUSOIDALES ASOCIADOS A LA LOCOMOCIÓN POST-RASCADO

En trabajos anteriores, se describió que los PDMs registrados durante el rascado ficticio exhiben un gradiente rostro caudal (Cuellar y cols, 2009). De manera muy interesante, en nuestros experimentos observamos dos patrones en los PDMs registrados durante la locomoción post-rascado, como a continuación se describe.

En el primero (Figura 44B) se presenta un gradiente de fase de los PDMs de los segmentos más rostrales a los segmentos más caudales. En la figura 44B se ilustra un registro promedio de un episodio de locomoción post-rascado (electrodos 1 a 8). Obsérvese el gradiente del pico de máxima amplitud de los PDMs, indicado por los puntos amarillos. Las líneas magenta indican el primer y el último pico de los PDMs, respectivamente.

El segundo patrón consistió en una onda sinusoidal tipo estacionaria (“standing”), de las mismas características que el PDM del primer patrón, pero sin propagar. En la figura 44C se ilustra un episodio promedio de locomoción post-rascado. Obsérvese los círculos amarillos que indican la máxima amplitud de los PDMs registrados en cada electrodo (1-8), además las líneas verdes muestran que no se presenta un desfase en los PDMs (es decir, no hay una propagación de los PDMs).

Asimismo, la figura 41A es un registro promedio de un episodio de rascado, previo a la locomoción. Los círculos indican el pico de máxima amplitud de los PDMs registrados con los electrodos 25-32 durante ésta actividad motora. Las líneas azules indican el primer y último pico de máxima amplitud de los PDMs.

Medimos entonces la velocidad de propagación de los PDMs registrados durante los episodios de rascado y de locomoción post-rascado. La velocidad se obtuvo graficando Δt contra la posición relativa de los electrodos de registro en milímetros (Δx), y

obteniendo el inverso de la pendiente (parte baja de la figura 44). La velocidad de propagación promedio de los PDMs registrados durante el rascado ficticio fue de 0.11 ± 0.05 m/s, y durante la locomoción ficticia post-rascado fue de 0.07 ± 0.008 m/s.

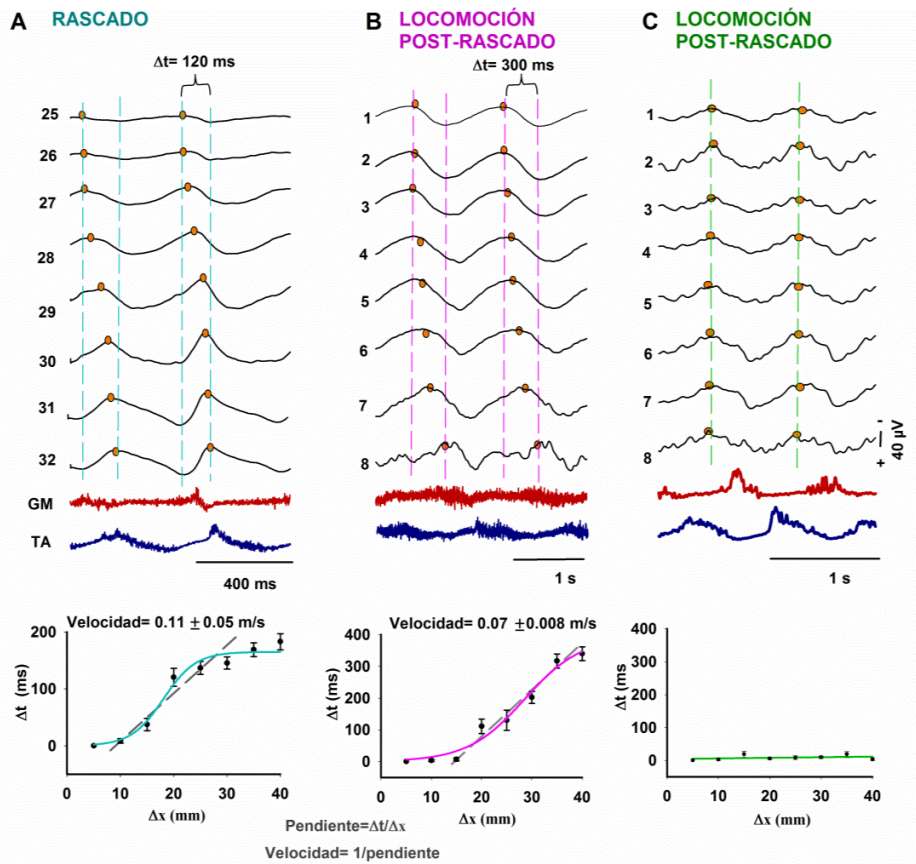


FIGURA 44. Velocidad de propagación de los PDMs. Promedio de un episodio de A) rascado ficticio. B) Locomoción post-rascado (PDMs propagantes). C) Locomoción post-rascado cuando los PDMs no presentan un gradiente de fase (PDMs “estacionarios”, no propagantes). Los círculos amarillos indican los picos de máxima amplitud de los PDMs que se usaron calcular el intervalo Δt , el cual se graficó contra la posición en milímetros de los electrodos (Δx). La velocidad se calculó con la fórmula indicada.

REGISTRO DE INTERNEURONAS RÍTMICAMENTE ACTIVAS DURANTE EL RASCADO Y DURANTE LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO.

En cuatro experimentos registramos la actividad eléctrica extracelular unitaria de 14 interneuronas (7 flexoras, 4 extensoras y 3 intermedias) rítmicamente activas durante 19 episodios de rascado y de locomoción post-rascado. Los registros fueron realizados en el segmento L6 de la médula espinal.

La figura 45A ilustra la actividad de una interneurona que dispara rítmicamente durante los ciclos de rascado, obsérvese que también dispara rítmicamente durante los episodios de locomoción post-rascado. Asimismo, en la figura 45B se muestra la gráfica de rasters del ciclo de disparo de 10/13 de éstas interneuronas durante 13 episodios de locomoción post-rascado. La fase en la que cada interneurona dispara durante rascado y durante locomoción post-rascado se indica como Ext (extensora), flex (flexora) o Interm (intermedia). Como se muestra en la figura, se encontró que todas las interneuronas registradas disparan en la misma fase (tanto en los episodios de rascado ficticio como en los episodios de locomoción ficticia post-rascado). El sitio donde se registraron estas 14 interneuronas se muestra en la reconstrucción histológica (figura 45C). Asimismo, en los experimentos realizados con el sistema mini matriz de Thomas Recording, se registraron 14 interneuronas: 5 flexoras, 4 extensoras y 5 intermedias (Figura 45D).

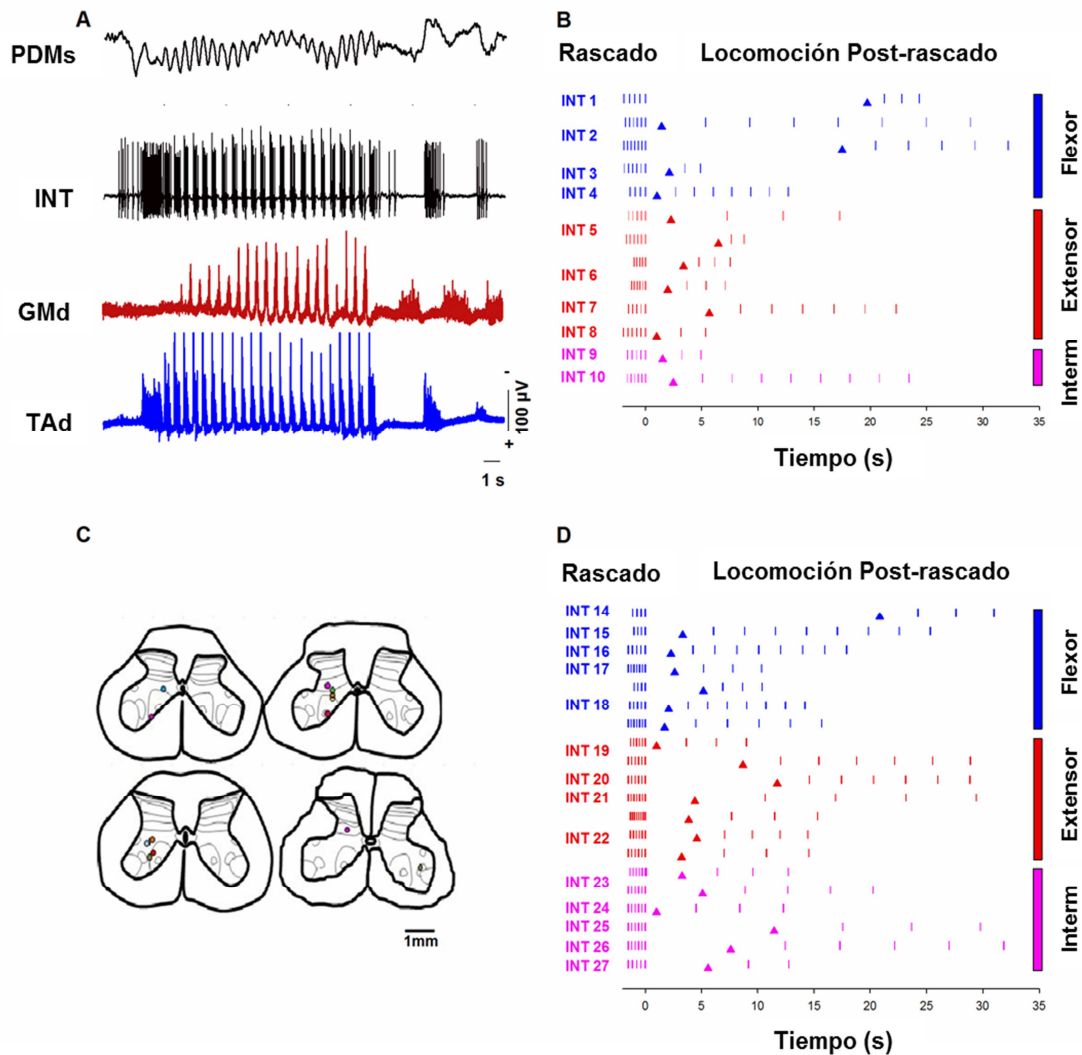


Figura 45. A) Registro simultáneo de potenciales sinusoidales del dorso de la médula espinal, electroneurogramas flexor y extensor y de la actividad unitaria de una interneurona disparando durante rascado y locomoción post-rascado. B) Gráfica de rastros del ciclo rítmico de 10 interneuronas (registro de micropipetas) durante rascado y locomoción post-rascado. Todos los ciclos fueron alineados respecto al final del episodio de rascado. Los rectángulos de la derecha indican el mismo experimento. C) Reconstrucción histológica de la localización de las interneuronas registradas. D) Igual que B, pero para 14 interneuronas registradas con el sistema mini Matrix Thomas Recording. PDMs, potencial sinusoidal del dorso de la médula; INT, interneurona; GMd, gastrocnemio medial derecho; TAd, tibial anterior derecho.

ANÁLISIS DE LAS INTERNEURONAS REGISTRADAS

Se usaron estadísticas circulares con la finalidad de asignar una fase específica a la descarga de las interneuronas. Como se mencionó anteriormente, registramos interneuronas con actividad rítmica tanto durante el rascado ficticio (Figura 46A, 47A y 48A) como durante la locomoción ficticia post-rascado (Figura 46B, 47B y 48B). Registramos interneuronas flexoras (Figura 46), extensoras (Figura 47) e intermedias (Figura 48). Asimismo, se construyeron histogramas del número de espigas (parte inferior de las figuras 46, 47 y 48), gráficas polares y se calculó vector promedio de la descarga de las interneuronas registradas con micropipetas.

Encontramos que la actividad de las interneuronas registradas estaba asociada a la misma fase en ambas tareas rítmicas. La figura 49A ilustra las gráficas polares de la descarga de 5/13 interneuronas registradas y clasificadas como flexoras durante rascado (panel izquierdo) y locomoción post-rascado (panel derecho). Los trazos azules en la gráfica representan la actividad electroneurográfica flexora promedio y los vectores muestran la fase preferente de descarga (prueba de Rayleigh, $p < 0.05$). Además, encontramos 4/13 interneuronas cuya descarga ocurre durante en la fase extensora durante el rascado y la locomoción post-rascado, tal y como se ilustra en la figura 45B. La fase extensora se encuentra marcada por el trazo en rojo. Finalmente, 4/13 interneuronas presentaron una descarga durante la fase intermedia de ambas tareas motoras, como se muestra en la figura 49C; la fase intermedia está indicada por trazos magenta.

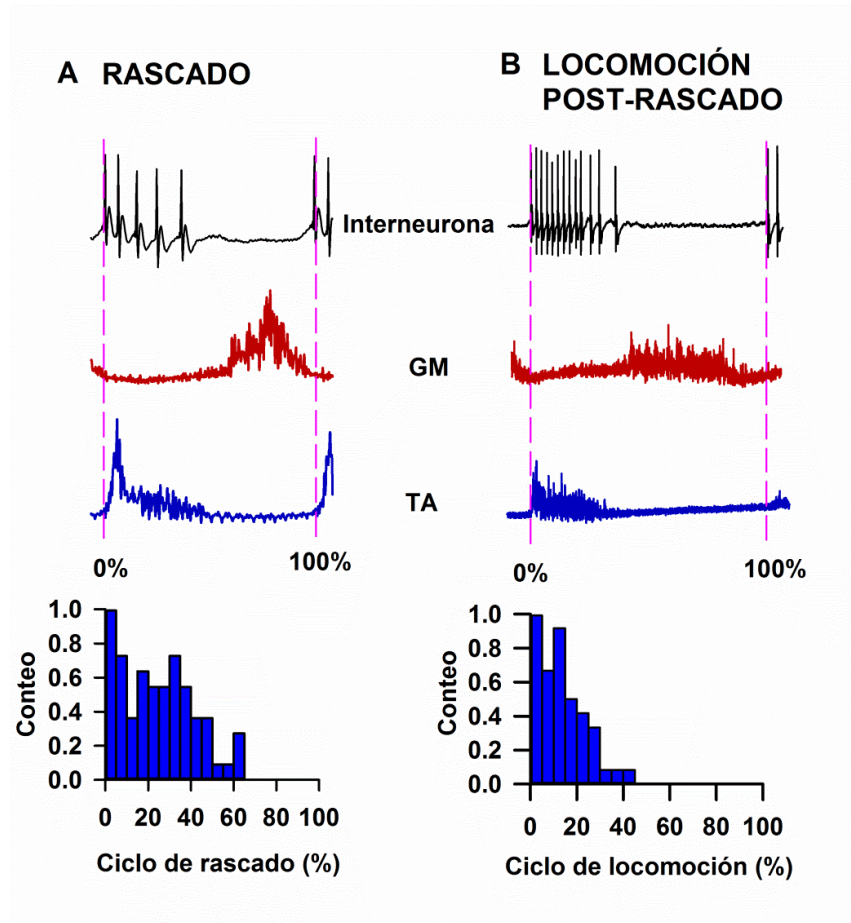


Figura 46. Interneurona flexora registrada durante A) El rascado ficticio y B) La locomoción ficticia post-rascado. El ciclo flexor está normalizado al 100% en ambas tareas motoras. Se construyeron histogramas del número de espigas (panel inferior). GM, gastrogнемio; TA, tibial anterior.

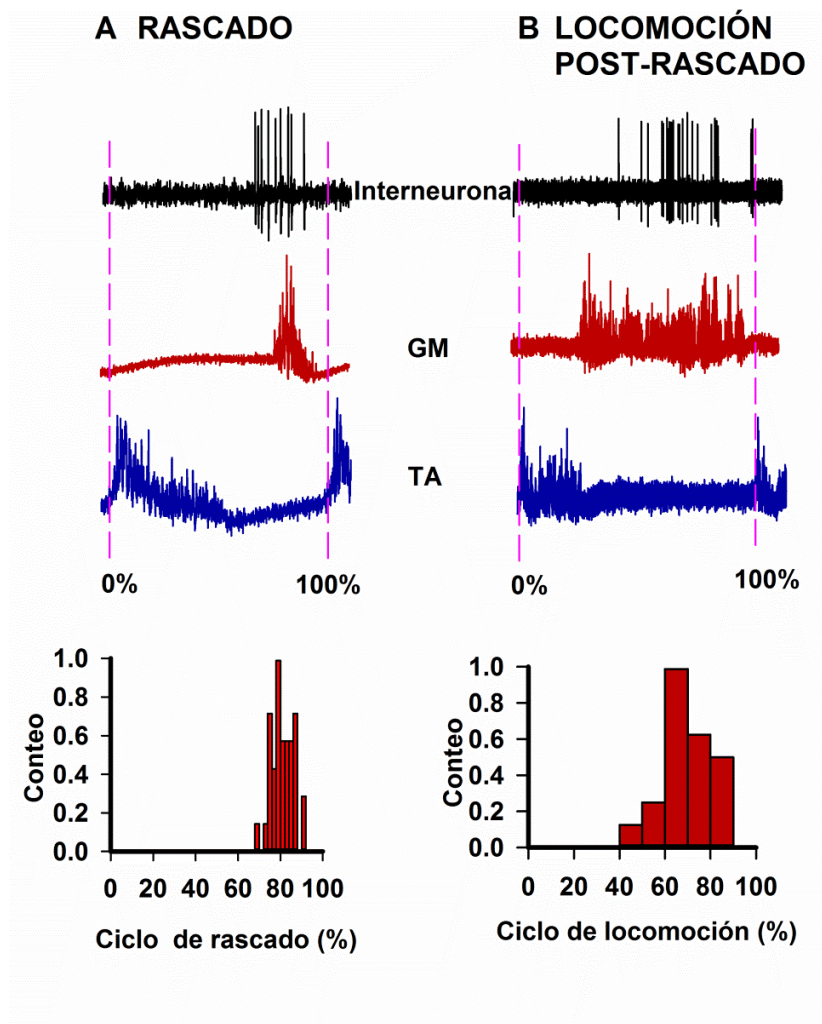


Figura 47. Interneurona extensora registrada durante A) El rascado ficticio y B) La locomoción ficticia post-rascado. El ciclo flexor está normalizado al 100% en ambas tareas motoras. Se construyeron histogramas del número de espigas (panel inferior). GM, gastrognemio; TA, tibial anterior.

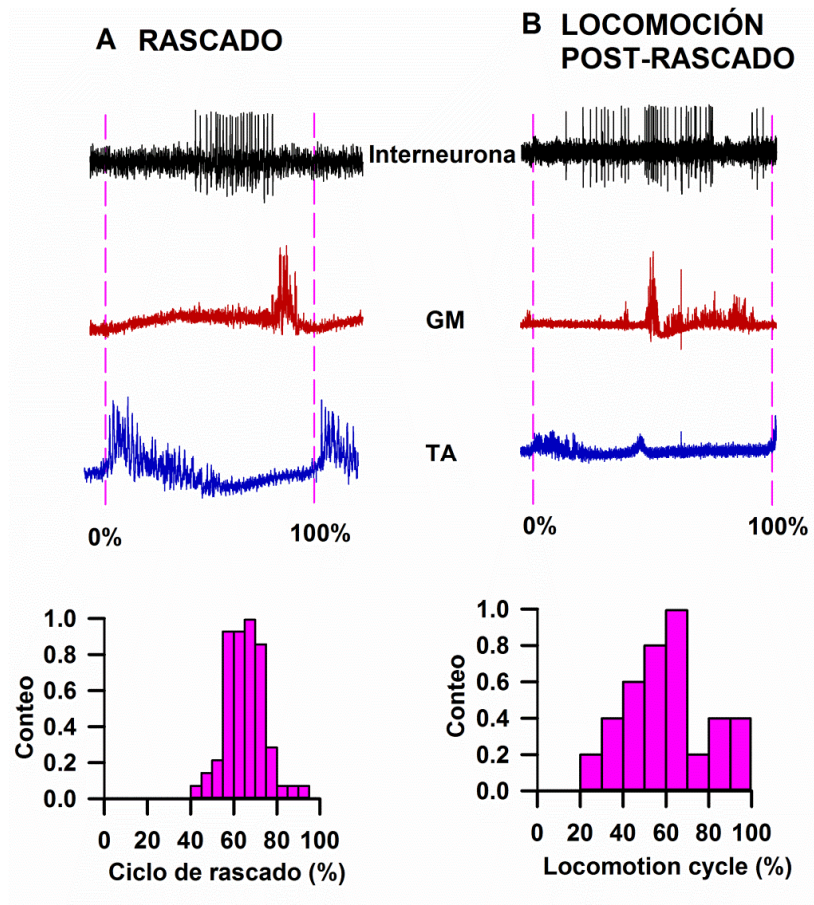


Figura 48. Interneurona intermedia registrada durante A) El rascado ficticio y B) La locomoción ficticia post-rascado. El ciclo flexor está normalizado al 100% en ambas tareas motoras. Se construyeron histogramas del número de espigas (panel inferior). GM, gastrognemio; TA, tibial anterior

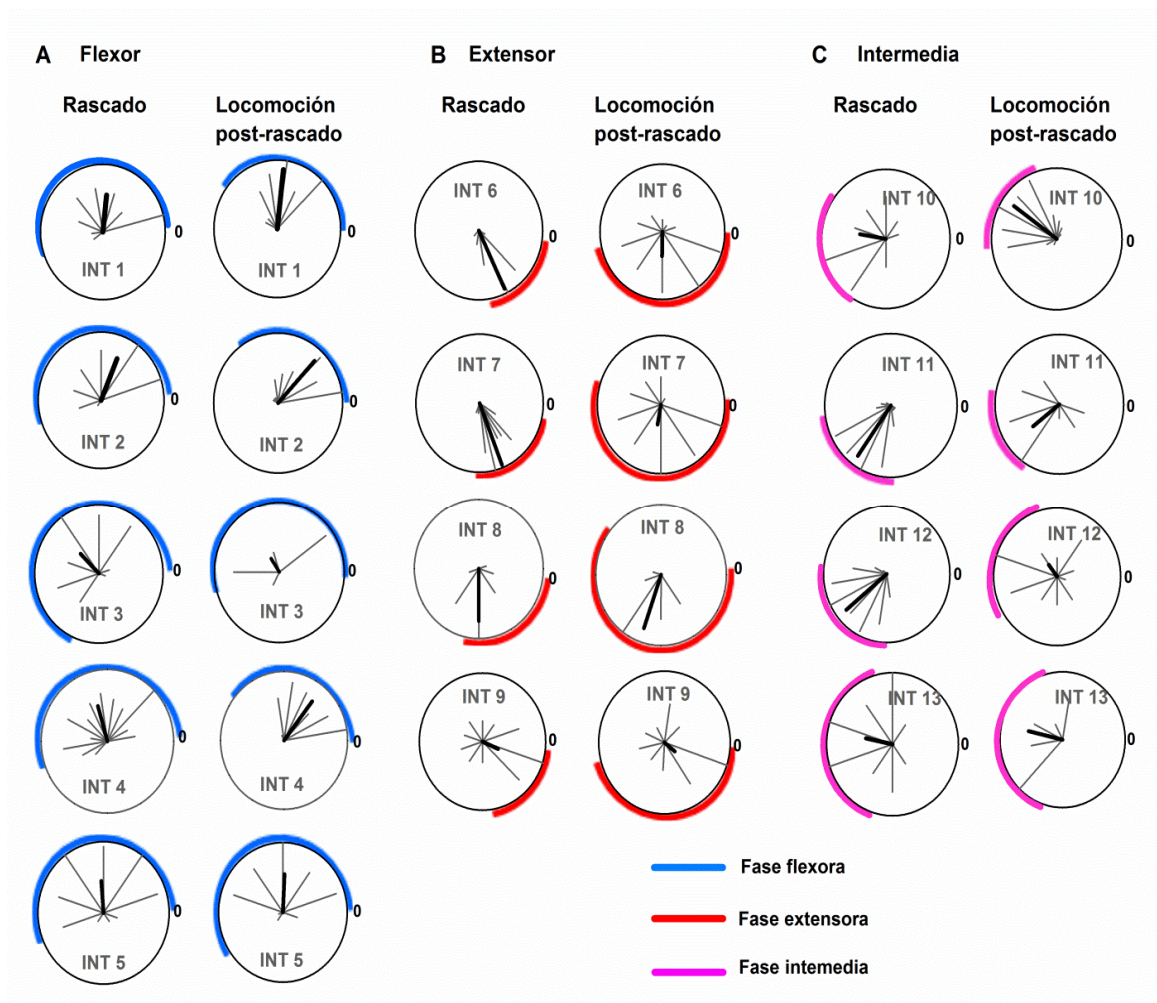


Figura 49. Gráficas polares de la interneuronas registradas. Los vectores muestran la fase preferencial de la descarga ($p < 0.05$). El 0 representa el inicio de la actividad flexora. Todas las neuronas disparan en la misma fase durante el rascado (panel izquierdo) y la locomoción post-rascado (panel derecho). A) 5/13 de las interneuronas dispararon en la fase flexora (indicada por trazos azules). B) 4/13 interneuronas dispararon rítmicamente durante la fase extensora (trazo rojo). C) 4/13 interneuronas fueron clasificadas como intermedias durante ambas tareas rítmicas (los trazos magenta indican la fase intermedia)

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA LOCOMOCIÓN ESPONTÁNEA Y LA LOCOMOCIÓN POST-RASCADO

COMPARACIÓN DE LAS AMPLITUDES Y FRECUENCIAS DE LAS ONDAS SINUSOIDALES REGISTRADAS DURANTE LA LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO Y LA LOCOMOCIÓN FICTICIA ESPONTÁNEA

Para realizar el análisis comparativo de las características de la locomoción espontánea y de la locomoción post-rascado usamos tres parámetros: la frecuencia de los PDMs, la amplitud de los PDMs y la duración del ciclo motor.

La frecuencia media de las ondas espinales sinusoidales registradas durante la locomoción ficticia post-rascado fue 0.9 ± 0.1 Hz. La frecuencia media de las ondas sinusoidales registradas durante la locomoción ficticia espontánea fue 1.1 ± 0.09 Hz. Aplicamos una prueba t-Student y no se encontró diferencia significativa entre ambas frecuencias ($p=0.164$, Figura 50C). Los datos relacionados a la locomoción espontánea fueron obtenidos del trabajo de Trejo (2010).

Para analizar el segundo parámetro, medimos de la amplitud de los potenciales eléctricos sinusoidales (Figura 50A, 50B). Encontramos que la amplitud media de los PDMs registrados durante la locomoción ficticia post-rascado fue de 65 ± 32 μ V. Por otra parte, los PDMs registrados durante la locomoción espontánea exhiben una amplitud media de 78 ± 36 μ V. Las amplitudes se compararon por medio de una prueba t-Student y no se encontró diferencia significativa ($p= 0.072$, figura 50D).

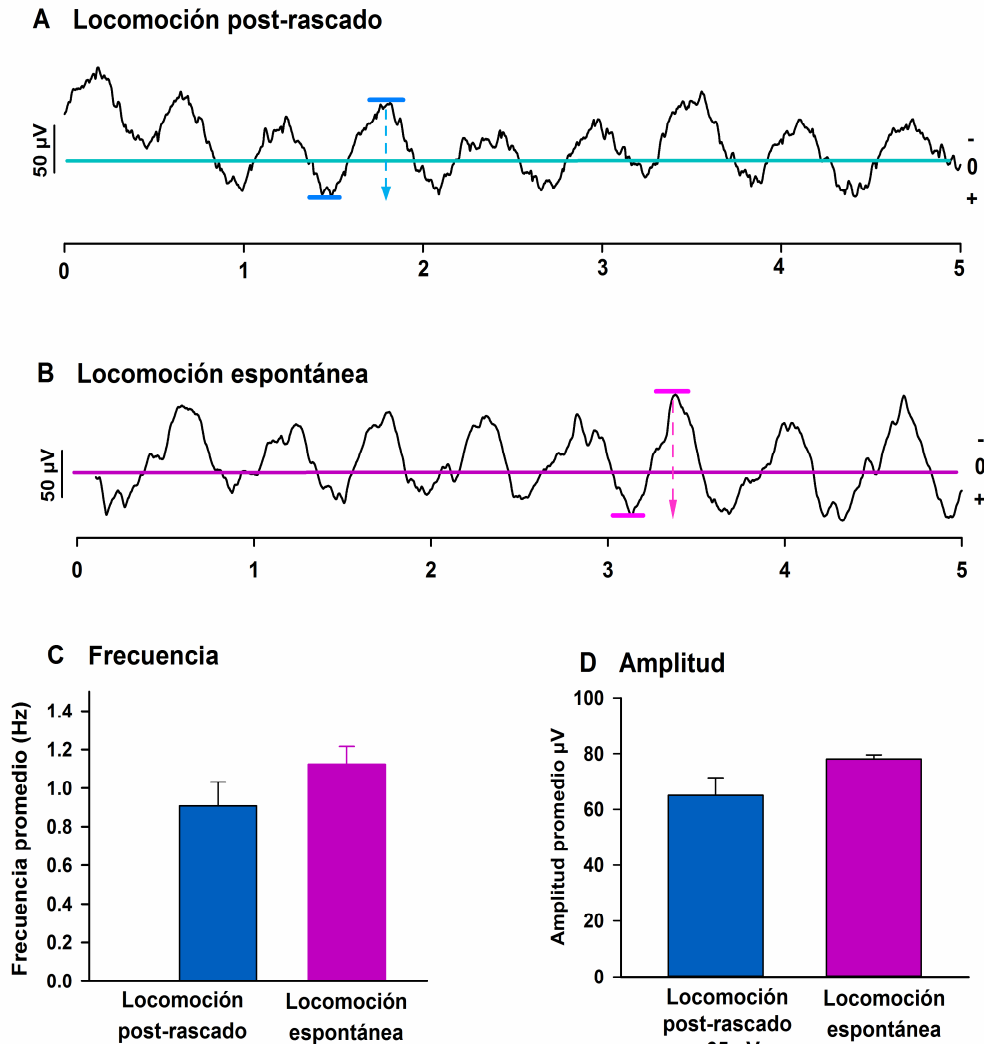


Figura 50. Medición de la amplitud de las ondas de potencial eléctrico sinusoidales durante A) la locomoción post-rascado y B) la locomoción ficticia espontánea. C) Frecuencia promedio y D) Amplitud promedio de dichas ondas. No se encontró diferencia significativa ni en la frecuencia ($n_{\text{locomoción post-rascado}}=14$, $n_{\text{locomoción espontánea}}=21$, $T=-1.423$, $p=0.164$, prueba t-Student), ni en la amplitud ($T=1.801$, $p=0.072$, t-Student).

El tercer parámetro a comparar fue la duración de los ciclos y descargas de nervios flexores y extensores, registrados durante la locomoción ficticia post-rascado y la locomoción espontánea. Los rectángulos en la figura 51 A y B ilustran como fue medida la duración en segundos de los ciclos y de las descargas de los nervios flexores y extensores. Encontramos que la duración del ciclo extensión-extensión durante la locomoción post-rascado fue de 1.12 ± 0.05 s. De la misma manera, la duración del ciclo extensión-extensión durante la locomoción espontánea fue de 1.0 ± 0.08 s. No se encontró diferencia significativa entre ambas mediciones (prueba U Mann-Whitney, $p=0.165$, figura 51C).

En éste contexto, se determinó que la duración del ciclo flexión-flexión durante la locomoción post-rascado fue de 1.41 ± 0.09 s y de 1.1 ± 0.08 s durante la locomoción espontánea. Al igual que la medición anterior, no encontramos diferencia significativa (prueba U Mann-Whitney, $p=0.407$, figura 51C).

Asimismo, determinamos la duración de las descargas de los nervios flexores y extensores. La duración de la descarga del nervio extensor fue 0.61 ± 0.01 s y 0.60 ± 0.01 s durante la locomoción post-rascado y la locomoción espontánea, respectivamente. No se encontró diferencia significativa en estas mediciones (prueba U Mann-Whitney, $p=0.876$, figura 51C).

Finalmente, y al igual que en los casos anteriores, no encontramos diferencia significativa (prueba U Mann-Whitney, $p=0.929$, figura 51C) en la duración de la descarga del nervio flexor durante la locomoción post-rascado (0.54 ± 0.01 s) y la locomoción espontánea (0.58 ± 0.01 s).

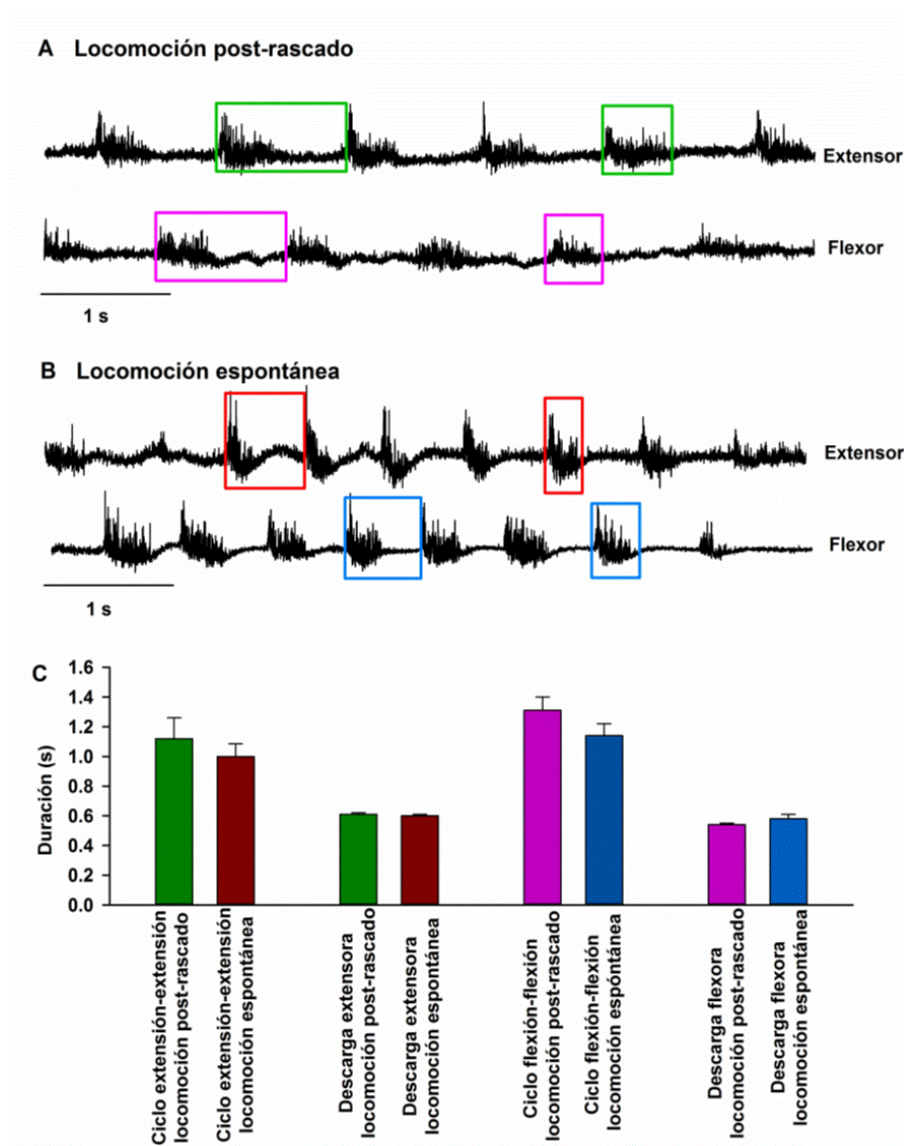


Figura 51. Medición de la duración de los ciclos y descargas flexoras y extensoras durante A) la locomoción ficticia post-rascado, cuadros verde y rojo, y B) la locomoción espontánea, cuadros rojo y azul. C) No se encontró diferencia significativa entre las duraciones de los ciclos flexores ($T=54$, $p=0.407$, prueba U Mann-Whitney) y extensores ($T=64$, $p=0.165$, U Mann-Whitney), y las descargas flexoras ($T=77$, $p=0.929$, U Mann-Whitney) y extensoras ($T=34$, $p=0.876$, U Mann-Whitney).

CORRELATO CONDUCTUAL DEL FENÓMENO DE LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO.

En el presente trabajo de tesis realizamos un correlato conductual del fenómeno de locomoción ficticia post-rascado. Para éste propósito utilizamos seis gatos adultos, machos y hembras. Encontramos que la latencia control promedio en seis gatos fue de 23.5 ± 2.4 s. La latencia control promedio por experimento se encuentra en la tabla 5. En la figura 52 se ilustra el ejemplo de un experimento, las fotos mostradas fueron tomadas de la videograbación correspondiente a éste experimento. Para ello, el gato se colocó en el centro del campo abierto (0 segundos), 28 segundos después el gato camina (Figura 52B y 52C) y finalmente se detiene (Figura 52D).

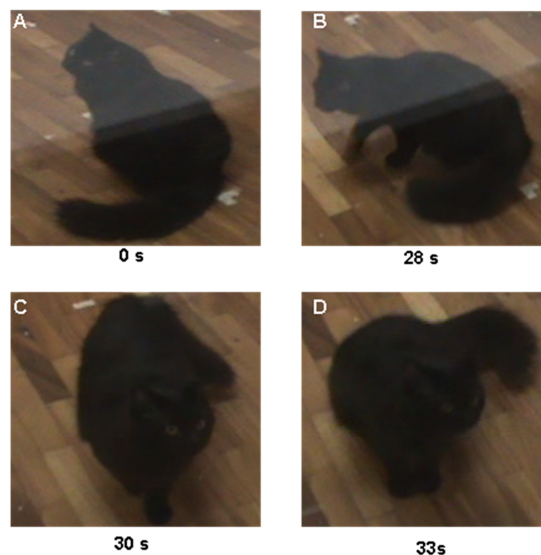


Figura 52. Ejemplo de un experimento control en la prueba de campo abierto. A) El gato es colocado en el centro del campo abierto por el experimentador (0 segundos). B) El gato comienza la marcha 28 segundo posteriores a su colocado. C) El gato camina y D) se detiene (segundo 33).

Se usaron a los mismos gatos en los experimentos donde se provocó el rascado. A éstos se les colocó una torunda de algodón de 3 mm de diámetro en el interior del canal auricular para inducir rascado (Bradley y Smith, 1988; Carlson Kutha y Smith, 1990) y se video grabó su comportamiento. En la figura 46 se muestra un ejemplo de éstos experimentos. Primero, el gato comienza a rascarse (0 segundos, figura 53A), el episodio de rascado finaliza (6 segundos, figura 53B); 11 segundos después del comienzo del episodio de rascado el gato comienza a caminar (Figura 53C) y finalmente se detiene (Figura 53D).

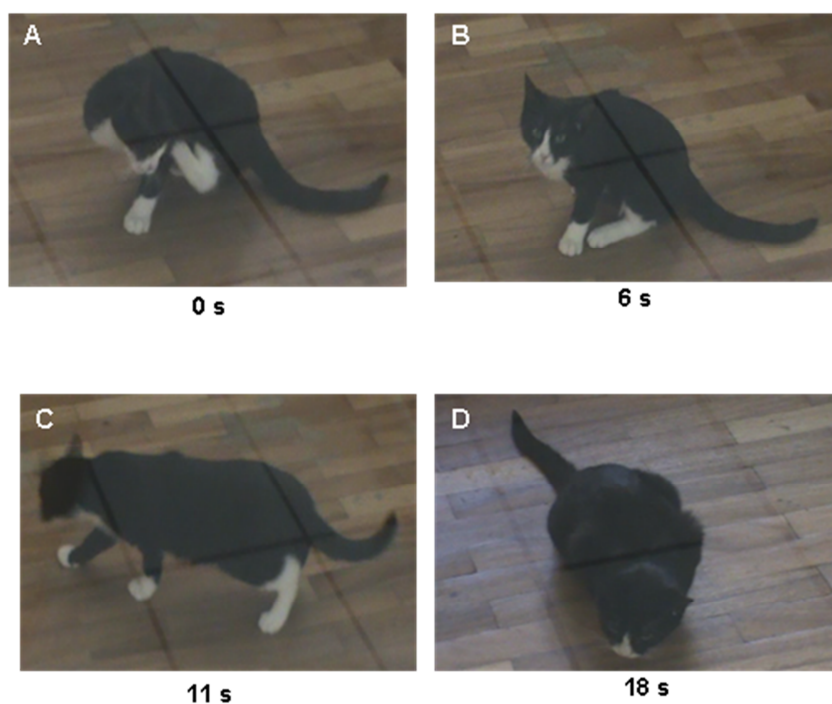


Figura 53. Ejemplo de un experimento con tratamiento en la prueba de campo abierto. Al gato se le colocó una torunda de algodón en el canal auricular. A) El gato comienza a rascarse (0 segundos). B) El gato se detiene (6 segundos). C) El gato comienza la marcha (11 segundos) y se detiene (18 segundos).

LAS LATENCIAS AL INICIO DEL EPISODIO DE LOCOMOCIÓN POST-RASCADO SON SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES RESPECTO AL CONTROL

Realizamos una medición de latencia en los gatos a los cuales se les provocó rascado, ésta consistió en tres mediciones, primero, en el tiempo transcurrido entre el colocado del gato al inicio de la marcha (latencia 1), segundo, el tiempo transcurrido entre el inicio del rascado y el inicio de la marcha (latencia 2) y tercero, la latencia entre el episodio de rascado y el inicio de la marcha (latencia post-rascado). Encontramos que en seis experimentos la latencia 1 fue de 11.1 ± 0.84 s (media \pm error estándar), la latencia 2 de 6.25 ± 0.47 s y la latencia post-rascado de 3.5 ± 0.43 s. Los resultados por experimento se muestran en la tabla 6.

La figura 54A es una gráfica que muestra la latencia control en seis experimentos ($n=54$ episodios, 6 gatos), cada punto azul indica la latencia en segundos desde el colocado hasta que el gato inicia la marcha. Asimismo, en la figura 54B se muestra la latencia en segundos (círculos rosas) desde que el gato es colocado en el campo abierto hasta que el gato empieza a caminar, en éste caso al gato se le colocó una torunda de algodón el canal auricular, por lo que presentó episodios de rascado. En los mismos episodios se midió la latencia desde que inició el episodio de rascado hasta el inicio de la marcha (círculos grises, figura 54C) y desde que finalizó el episodio de rascado hasta el inicio de la locomoción (círculos rojos, figura 54D). Finalmente se realizó una comparación de las latencias antes mencionadas con las latencias control por medio de una

prueba ANOVA ($p < 0.001$), seguida de una prueba de Dunnett, encontrándose diferencia significativa en todos los grupos respecto al control ($p < 0.001$).

Tabla 5. Latencias promedio por experimento

Número de Experimento	Latencia control	Latencia colocado-inicio de la locomoción (latencia 1)	Latencia entre el inicio del rascado y el inicio de la locomoción post-rascado (latencia 2)	Latencia entre el fin del episodio de rascado y el inicio de la locomoción post-rascado (latencia post-rascado)
1	11.6 ± 1.2 s	11 ± 4 s	8 ± 1.16 s	5.2 ± 1 s
2	10 ± 1 s	8.7 ± 1.8 s	6.4 ± 0.8 s	2.5 ± 0.6 s
3	18.5 ± 5.5 s	13 ± 1.7 s	5.6 ± 1.2 s	3.6 ± 1.2 s
4	32.2 ± 3.3 s	9.2 ± 0.81 s	5.1 ± .93 s	2.6 ± 0.6 s
5	23 ± 2 s	11.2 ± 2.7 s	7 ± 1.5 s	4.1 ± 1.4 s
6	27.1 ± 7.4 s	15.2 ± 1.9 s	7.2 ± 1.1 s	3.1 ± 1.2 s
Media	23.5 ± 2.4 s	11.1 ± .84 s	6.25 ± 0.47 s	3.5 ± 0.43 s

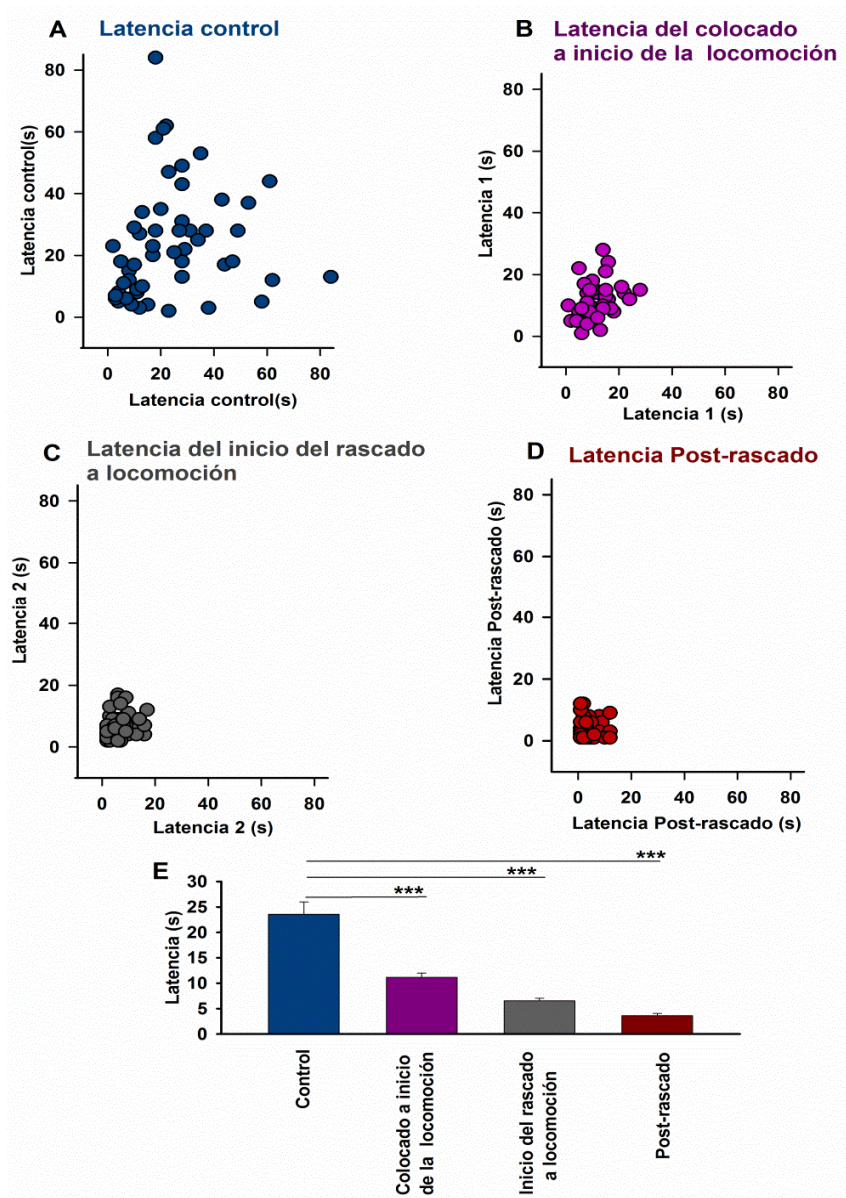


Figura 54. Gráficas de dispersión de las latencias. A) Latencia control, ver texto para detalles. B) Latencia del colocado al inicio de la marcha. C) Latencia del inicio del episodio de rascado al inicio de la marcha. D) Latencia del final del episodio de rascado al inicio de la marcha (latencia post-rascado) E) Existe una diferencia significativa entre las latencia control y la latencia del colocado al inicio de la locomoción ($Q=5.638$, $***p<0.001$, prueba de Dunnett; posterior a ANOVA, $p<0.001$); la latencia control y la latencia del inicio del rascado al inicio de la locomoción ($Q=8.653$, $***p<0.001$, prueba de Dunnett; posterior a ANOVA, $p<0.001$) y entre la latencia control y la latencia post-rascado locomoción ($Q=9.914$, $***p<0.001$, prueba de Dunnett, posterior a ANOVA, $p<0.001$).

TRAYECTORIAS RECORRIDAS DURANTE LA LOCOMOCIÓN CONTROL Y LA LOCOMOCIÓN POST-RASCADO

En nuestros experimentos (n=6 gatos control y con tratamiento) video grabamos a los sujetos en la prueba de campo abierto. Usando éstos videos realizamos una reconstrucción de las trayectorias recorridas durante la situación control (locomoción control, figura 55A). Además, también se realizó ésta reconstrucción cuando a los gatos se provocó rascado (locomoción post-rascado, figura 55B), es decir, se trata de las trayectorias recorridas por los gatos durante la locomoción post-rascado (posterior a un episodio de rascado). Encontramos, tal y como se observa en la figura 55, que no existe una preferencia de las trayectorias recorridas por los sujetos hacia alguna región del campo abierto durante la locomoción post-rascado con respecto a la locomoción control.

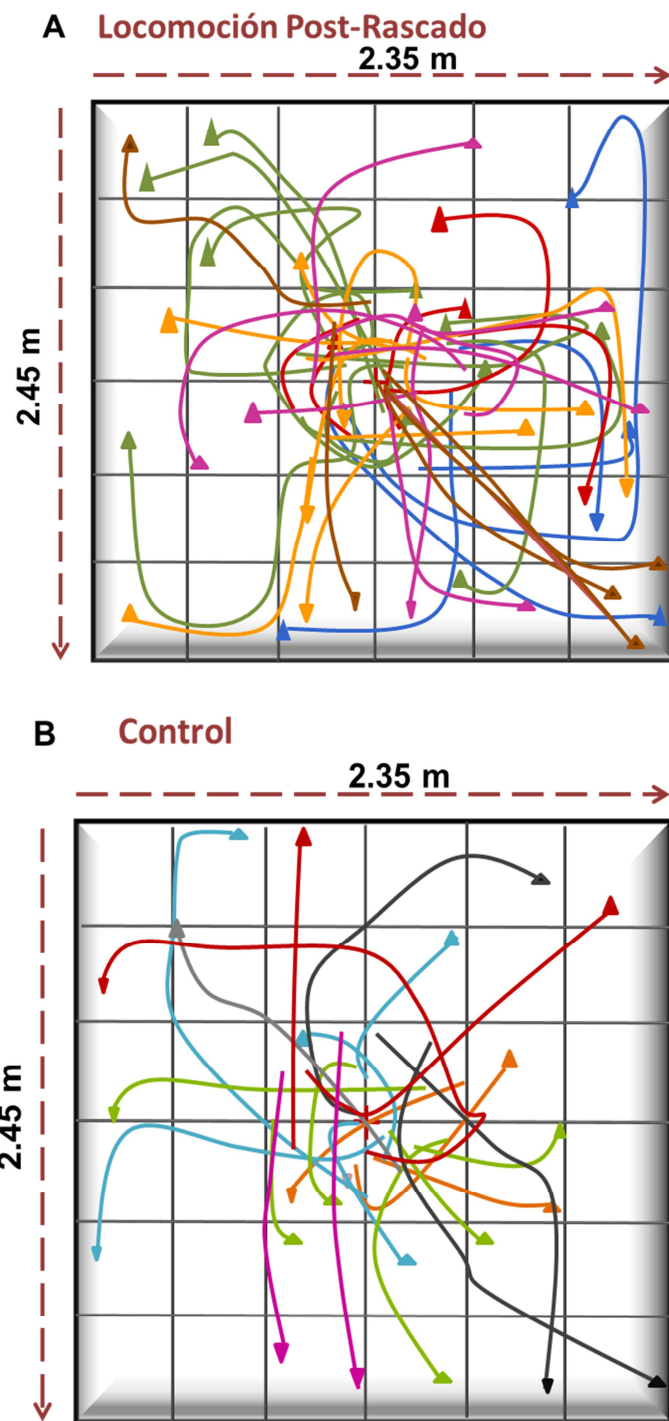


Figura 55. Trayectorias recorridas por los sujetos durante A) la locomoción control y B) la locomoción post-rascado (n=6 gatos).

DISTANCIA, DURACIÓN Y VELOCIDAD DE LA LOCOMOCIÓN CONTROL Y DE LA LOCOMOCIÓN POST-RASCADO

Usando los videos antes mencionados (métodos), realizamos un análisis de la distancia, tiempo de recorrido y velocidad de la locomoción, tanto en el control como en el tratamiento. Encontramos que la distancia recorrida promedio en el control fue de $0.86 \pm 0.1\text{m}$ (media \pm error estándar), en el caso de la locomoción post-rascado la distancia recorrida promedio fue de $1.1 \pm 0.07\text{m}$ (media \pm error estándar). La tabla 6 contiene los valores promedio de la distancia recorrida por los animales en los experimentos. En la figura 56A se ilustra la distribución de los datos control y tratamiento (distancia recorrida) en seis experimentos ($n=25$ episodios, 6 gatos). Para ello se usó gráfica de “caja y bigotes” (panel izquierdo). Finalmente, encontramos que no existe diferencia significativa ($p=0.217$, prueba t-Student) entre la distancia recorrida en la locomoción control con respecto a la distancia recorrida en la locomoción post-rascado.

El segundo parámetro que medimos fue la duración de la marcha o tiempo de recorrido, encontramos en la locomoción control tiene una duración promedio de $2.8 \pm 0.39\text{ s}$, tal y como se muestra en la tabla 7 y en la figura 56B. La duración promedio de la locomoción post-rascado fue de $4.4 \pm 0.43\text{ s}$ (tabla 7, figura 56B). En el panel izquierdo la figura 56B se ilustra la distribución de los datos control y de locomoción post-rascado en seis experimentos. Por otra parte, encontramos que existe una diferencia significativa entre la duración de la locomoción post-rascado promedio con respecto a la locomoción control (Figura 56B, panel derecho), para ello se aplicó una prueba t-Student ($p < 0.05$).

El tercer parámetro analizado fue la velocidad; no encontramos diferencia significativa entre la velocidad promedio de la locomoción control (0.34 ± 0.03 m/s) con respecto a la locomoción post-rascado ($0.32 \pm .023$ m/s); se usó una prueba t-Student ($p=0.123$, figura 56C). La velocidad promedio de la locomoción control y post-rascado por experimento se encuentra en la tabla 8.

Tabla 6. Distancia recorrida durante la locomoción control y la locomoción post-rascado, promedio total y promedio por experimento (n= 6 gatos)

No.de experimento	Distancia recorrida promedio (locomoción control)	Distancia recorrida promedio (locomoción post-rascado)
1	0.3 ± 0.01 m	1.4 ± 0.2 m
2	1.6 ± 0.54 m	1.6 ± 0.1 m
3	0.74 ± 0.21 m	0.75 ± 0.2 m
4	0.65 ± 0.19 m	1.07 ± 0.1 m
5	$1.1 \pm .001$ m	1.2 ± 0.1 m
6	1.1 ± 0.16 m	$1.1 \pm .07$ m
Promedio	0.86 ± 0.1 m	1.1 ± 0.07 m

Tabla 7. Duración promedio de la locomoción control y de la locomoción post-rascado.

No.de experimento	Duración promedio de la locomoción control	Duración promedio de la locomoción post-rascado
1	1 s	5.6 ± 3.6 s
2	3.5 ± 0.5 s	4.2 ± 1.1 s
3	2.8 ± .73 s	4.6 ± 1.8 s
4	2.3 ± .49 s	5.3 .81 s
5	2.5 ± .0.5 s	2.7 ± 0.25 s
6	4.7 ± 1.4 s	4.6 ± 0.5 s
Promedio	2.8 ± 0.39 s	4.4 ± 0.43 s

Tabla 8. Velocidad promedio de la locomoción control y de la locomoción post-rascado.

No.de experimento	Velocidad promedio de la locomoción control	Velocidad promedio de la locomoción post-rascado
1	0.37 ± .01 m/s	0.31 ± .06 m/s
2	0.42 ± .09 m/s	0.38 ± .24 m/s
3	0.27 ± .03 m/s	0.18 ± .02 m/s
4	0.32 ± .06 m/s	0.23 ± .03 m/s
5	0.49 ± 0.09 m/s	0.46 ± .08 m/s
6	0.31 ± .19m/s	0.25 ± .23 m/s
Promedio	0.34 ± 0.03 m/s	0.32 ± .023 m/s

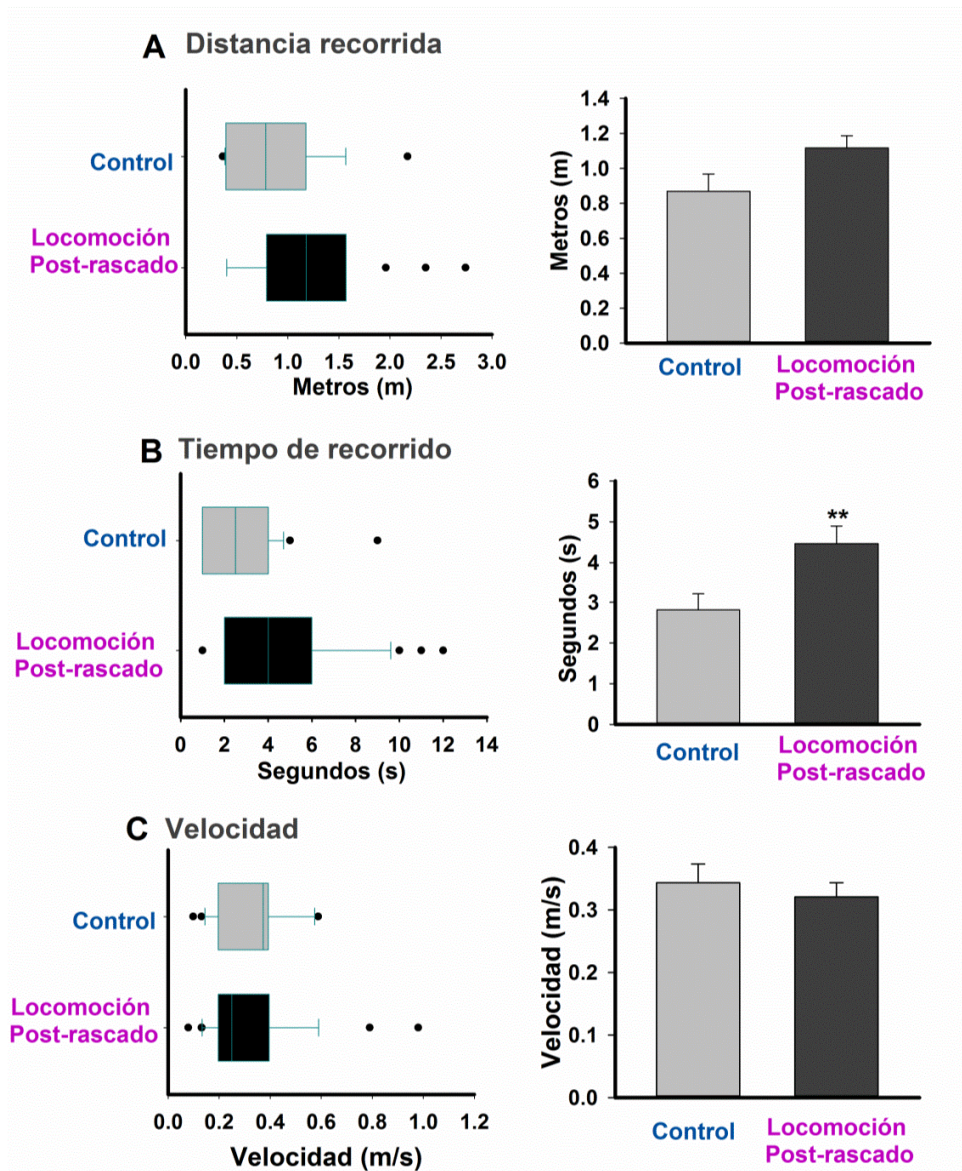


Figura 56. A) Distancia recorrida B) Tiempo de recorrido y C) Velocidad de la locomoción control y la locomoción post-raspado. Panel izquierdo, gráficas de caja y bigotes de los datos obtenidos en 6 experimentos. Panel derecho, no se encontró diferencia significativa ni en la distancia ($n_{\text{control}}=6$, $n_{\text{tratamiento}}=6$, $t=-1.318$, $p=0.217$, prueba t-Student), ni en la velocidad ($n_{\text{control}}=6$, $n_{\text{tratamiento}}=6$, $t=1.222$, $p=0.123$, prueba t-Student), pero si en el tiempo de recorrido ($n_{\text{control}}=6$, $n_{\text{tratamiento}}=6$, $t=-2.181$, $p<0.05$, prueba t-Student),

DISTANCIA, DURACIÓN Y VELOCIDAD DE LA LOCOMOCIÓN POST-RASCADO EN MACHOS Y HEMBRAS

Se realizó un análisis de los datos de distancia, tiempo de recorrido y velocidad de la locomoción post-rascado en gatos machos y hembras, para lo cual se hizo una separación de los sujetos en 3 machos y 3 hembras. Se aplicó una prueba U- Mann-Whitney y no se encontró diferencia significativa en ninguno de los tres parámetros analizados (Figura 57).

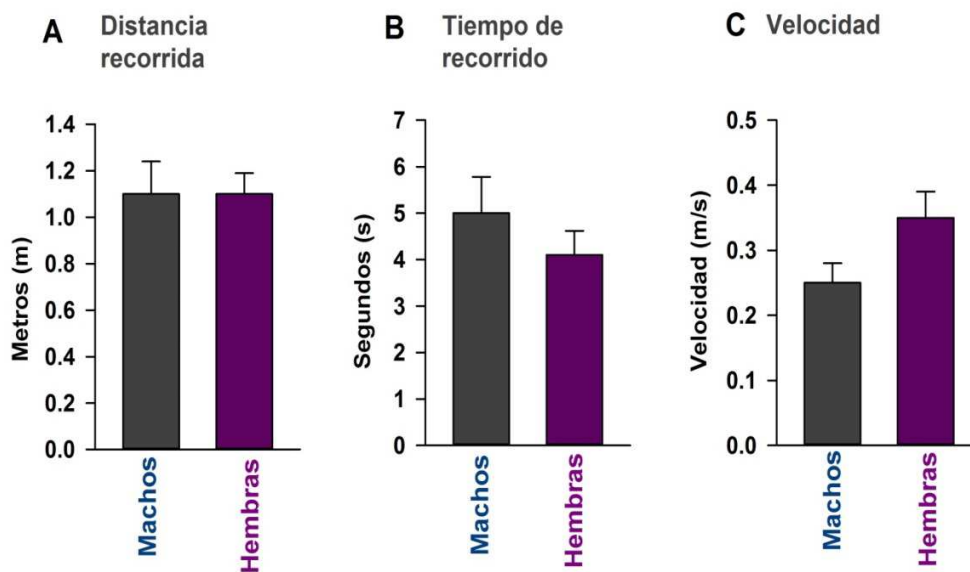


Figura 57. No se encontró diferencia significativa en la distancia ($T=351$, $U= 215$, $p=0.990$, prueba U-Mann Whitney), tiempo de recorrido ($T=391$, $U= 177$, $p=0.328$, prueba U Mann-Whitney) y velocidad de la locomoción post-rascado ($T=301$, $U= 165$, $p=0.204$, prueba U Mann-Whitney) entre sujetos machos ($n=3$) y hembras ($n=3$).

ANALISIS COMPARATIVO DE LA LATENCIA MEDIDA EN EXPERIMENTOS CONDUCTUALES Y EN EXPERIMENTOS ELECTROFISIOLOGICOS

Se hizo un análisis comparativo de los resultados obtenidos en los experimentos conductuales con respecto a los experimentos electrofisiológicos. Para ello se usaron los resultados de latencia del inicio del episodio de rascado ficticio al inicio del episodio e locomoción ficticia post-rascado y de la latencia medida del final del episodio de rascado ficticio al inicio del episodio de locomoción ficticia post-rascado o latencia post-rascado. Estos datos se compararon con las mismas latencias medidas en experimentos conductuales encontrándose diferencia significativa en ambos casos (U de Mann-Whitney, figura 58).

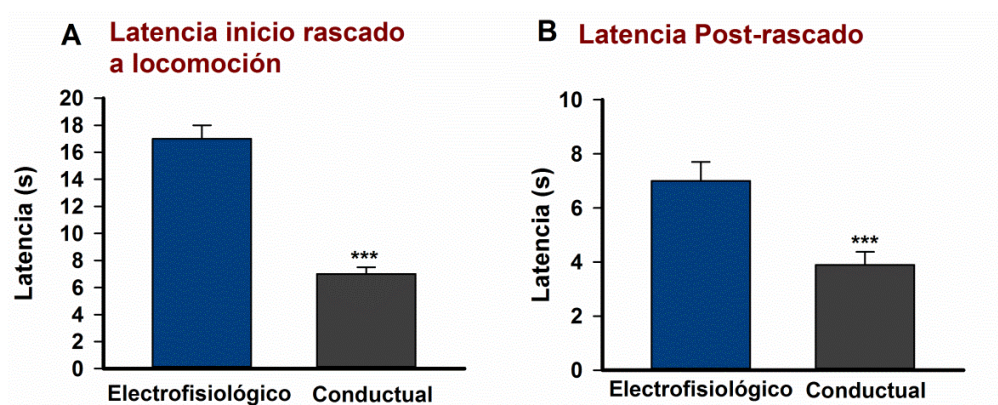


Figura 58. A) Existe diferencia significativa entre la latencia del inicio del rascado al inicio de la marcha (T=21, U= 0.00,*** p<0.001, prueba U Mann-Whitney) y en B) la latencia post-rascado(T=42, U= 21.5,* P<0.001, prueba U Mann-Whitney), en experimentos electrofisiológicos (n=14) con respecto a experimentos conductuales (n=6)

MODELO COMPUTACIONAL

En el presente trabajo de tesis, decidimos establecer un modelo computacional de la arquitectura del GCP que reprodujera nuestros hallazgos experimentales. El modelo fue basado en las ecuaciones tipo Morris-Lecar (Perez y cols., 2009). Las ecuaciones diferenciales fueron resueltas usando el programa MATLAB MATHWORKS usando el método Runge-Kutta de cuarto orden.

DESCRIPCION DEL MODELO CONSTRUIDO

El modelo fue construido con base en observaciones experimentales anteriores (Perez y cols., 2009) y de la presente tesis. El modelo consiste de cuatro hemicentros hipotéticos; como se muestra en la figura 59. El primer hemicentro o hemicentro premotor está localizado a nivel supraespinal y consta de dos grupos; uno asociado al inicio del rascado ficticio y otro asociado al inicio de la locomoción post-rascado. Cada grupo está compuesto de 10 neuronas y están conectados vía neuronas inhibitorias.

El segundo hemicentro está formado por dos grupos de neuronas que se inhiben mutuamente (generador de ritmo del rascado); éstas reciben entradas sinápticas del hemicentro premotor asociado al inicio del rascado ficticio y reproducen la frecuencia y ciclos de trabajo del rascado ficticio.

El tercer hemicentro (generador de ritmo de la locomoción) recibe entradas sinápticas del hemicentro premotor asociado al inicio de la locomoción y es el responsable de producir el ciclo locomotor y periodo de acuerdo a las observaciones experimentales. Finalmente, el cuarto hemicentro es un formador de patrones que es activado ya sea por el generador de ritmo del rascado o por el generador de ritmo locomotor y a su vez activa a las correspondientes motoneuronas.

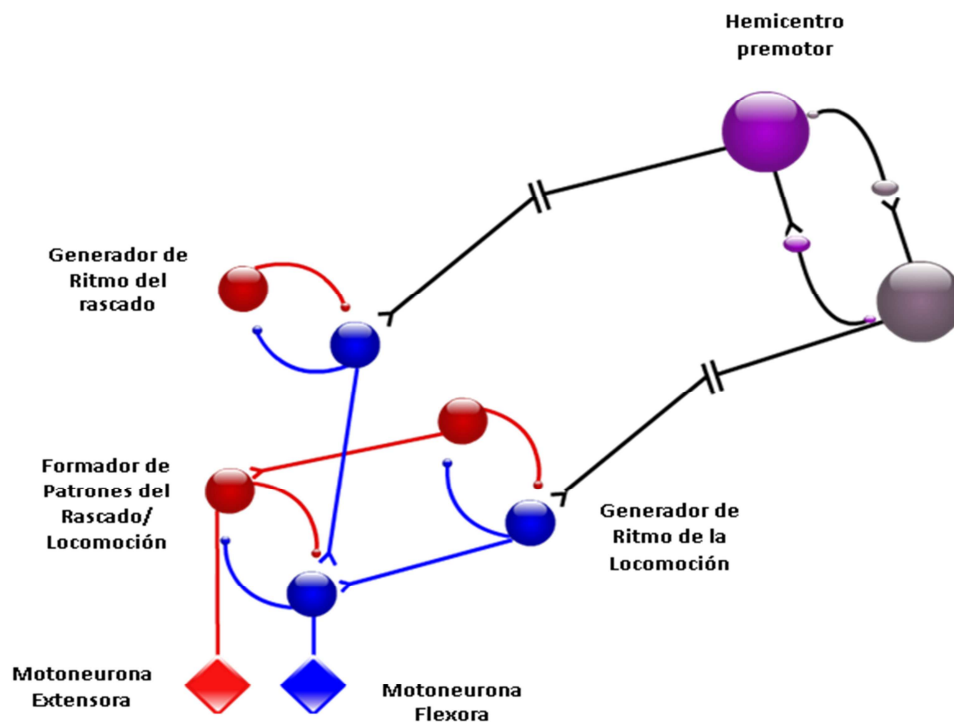


Figura 59. Representación esquemática del modelo. Este consiste en un hemicentro premotor (círculo morado y gris) responsables del inicio de la locomoción y del rascado. Un hemicentro generador del ritmo del rascado y uno de la locomoción, ambos comparten un hemicentro formador de patrones y motoneuronas flexoras y extensoras. Para más explicación ver texto.

ECUACIONES DEL MODELO

Las ecuaciones empleadas para este modelo son las siguientes:

$$C \frac{dv}{dt} = I_{app} - I_{ionic} - I_{synaptic}$$

$$\frac{dw}{dt} = \varphi \tau(v)(w_{\infty}(v) - w)$$

$$\frac{dCa}{dt} = \varepsilon(-\mu g_{Ca} m_{\infty}(v)(v - V_{Ca}) - Ca)$$

$$I_{ionic} = g_{Ca} m_{\infty}(v)(v - V_{Ca}) + g_K w(v - V_K) - g_{KCa} z(Ca)(v - V_K) - g_L(v - V_L)$$

$$m_{\infty} = \frac{1}{2} \left(1 + \tanh \left(\frac{v + V_1}{V_2} \right) \right)$$

$$w_{\infty} = \frac{1}{2} \left(1 + \tanh \left(\frac{v + W_1}{W_2} \right) \right)$$

$$\tau(v) = \cosh \left(\frac{v - W_1}{2W_2} \right)$$

$$z(Ca) = \frac{Ca}{Ca_0 + Ca}$$

Todos los parámetros usados en éstas simulaciones se encuentran resumidas en la tabla 9; dichos parámetros fueron obtenidos del trabajo de Pérez y cols. (2009).

DESCRIPCIÓN DE LAS CORRIENTES IÓNICAS USADAS.

a) $I_{Ca} = g_{Ca} m_{\infty}(v) * (v - V_{Ca})$ Una corriente de calcio

b) $I_K = g_K * w * (v - V_K)$ Una corriente entrante de potasio

c) Una corriente de calcio dependiente de potasio. Ésta corriente es la responsable del comportamiento ritmogénico en las neuronas.

$$g_{KCa} z(Ca)(v - V_K)$$

d) $g_L(v - V_L)$ Una corriente de fuga

Estas ecuaciones describen la tasa de cambio del potencial de membrana $v(t)$, la variable de recuperación lenta $w(t)$ y la concentración de calcio $Ca(t)$. C representa la capacitancia de la membrana por unidad de área.

La conductancia basada en el modelo describe el comportamiento dinámico del potencial de membrana $v(t)$, tomando en cuenta cuatro corrientes iónicas para los canales de calcio, potasio, de fuga y calcio dependiente de potasio, cuyas conductancias están dadas por g_{Ca} , g_K , g_L y g_{KCa} . Con la inclusión de un canal de potasio dependiente de calcio el modelo reproduce la actividad tipo descarga observada experimentalmente. La dinámica de éste canal está gobernada por los parámetros μ y ϵ . El parámetro μ está determinado por la razón entre el área de la superficie celular y el volumen de calcio. El parámetro ϵ es el producto de la tasa

de degradación del calcio y la relación del calcio libre total. Dado que el calcio por lo general es neutralizado, ε es pequeño y la concentración de $\text{Ca}(t)$ tiene una dinámica lenta. Lo anterior es suficiente para recrear la duración los períodos de rascado ficticio o de locomoción ficticia (de 7 a 30 segundos). Los parámetros μ y ε están relacionados, respectivamente, con la duración y periodo de la descarga.

$I_{synaptic} = \sum_j g_{ij}^{syn} r_j (v_i - E_s)$ La última corriente es la corriente sináptica de cada célula. El total de corrientes entrantes (tanto excitatorias como inhibitorias) fue modelado por Destexhe y cols. (1994) y se define como:

$r_j = 1 - e^{-at}$ Cuando g_{ij} es la conductancia de la neurona "i" hacia la neurona "j". r_j se obtiene con la siguiente ecuación:

for $t < t_{on}$

$$r_j = (1 - e^{-at})e^{-\beta(t-t_{on})}$$

for $t > t_{on}$

El parámetro t_{on} es el tiempo en el cual el potencial de membrana de una neurona se incrementa y supera el umbral de $-15\mu\text{V}$. En éste momento, la ocurrencia de un potencial de acción se considera inevitable.

Tabla 9. Parámetros usados en las simulaciones numéricas.

Parametro	Valor	
g_{Ca}	4.0 mS/cm ²	
g_K	8.0	
g_L	2.0	
g_{KCa}	0.25	
V_{Ca}	120 mV	
V_K	-84.0 mV	
V_L	-60.0 ±0.6 mV	
V_1	1.2 mV	
V_2	18 mV	
W_1	12 mV	
W_2	17.4 mV	
ϕ	4.6 s ⁻¹	
ϵ	OSP-LSP	4e-5 s ⁻¹
	MC-L	4e-4 s ⁻¹
	MC-S	1.75e-3 s ⁻¹
	PF	4e-4 s ⁻¹
	MN	4e-4 s ⁻¹
μ	OSP, LSP, MC-L	0.2
	MC-S_Flexor	0.1
	MC-S_Extensor	0.178
I_{App}	43.8 mA / cm ²	
α	0.1 ms ⁻¹	
β	0.2 ms ⁻¹	
E_s	0 mV (Excitatory); -80 mV (Inhibitory)	
g^{syn}	0.1	

Nuestro modelo reproduce la transición de rascado a locomoción post-rascado, tal y como se observó en los resultados experimentales.

En la figura 60 se muestra un episodio simulado de rascado seguido de un episodio de locomoción post-rascado. Los dos trazos superiores son potenciales premotores de la actividad poblacional de los hemicentros de rascado y locomoción. El resto de los trazos corresponde a la actividad de una interneurona perteneciente al grupo que se señala. La simulación extracelular fue obtenida por medio de la segunda derivada de la actividad intracelular.

En la figura 61 se hace una comparación de gráficas de rastros de actividad obtenidas con el modelo (Figura 61A) y de los resultados experimentales (Figura 61B). Cada punto representa el final de la actividad flexora en el rascado y su inicio en la locomoción.

Usando los resultados del modelo se calculó una latencia entre el final del episodio de rascado al inicio de la locomoción en 5 ± 1 s. Nótese que los resultados obtenidos fueron consistentes con los resultados experimentales donde la latencia calculada fue de 6.2 ± 0.9 s.

En el modelo, la transición entre rascado y locomoción es producida por un efecto de fatiga en las neuronas del hemicentro premotor relacionadas al inicio del rascado (Figura 55), cuya frecuencia de adaptación es muy lenta. Además de su frecuencia de descarga lenta, estas neuronas inhiben a las neuronas del hemicentro premotor relacionadas con la locomoción y excitan a las neuronas generadoras de ritmo del rascado. Esta es la causa de un período corto de activación del rascado y del retraso entre el inicio de rascado y locomoción.

Cuando el hemicentro premotor de la locomoción es liberado de la inhibición, las neuronas empiezan a disparar. Esta activación está dirigida al Generador de Ritmo locomotor y se inicia la locomoción.

La diversidad de los parámetros μ y ε es la causa de las diferencias en activación y frecuencias de las neuronas simuladas, lo cual provee de un efecto aleatorio en la duración del episodio de rascado, la latencia al inicio de la locomoción y la frecuencia de los ciclos de rascado y locomoción.

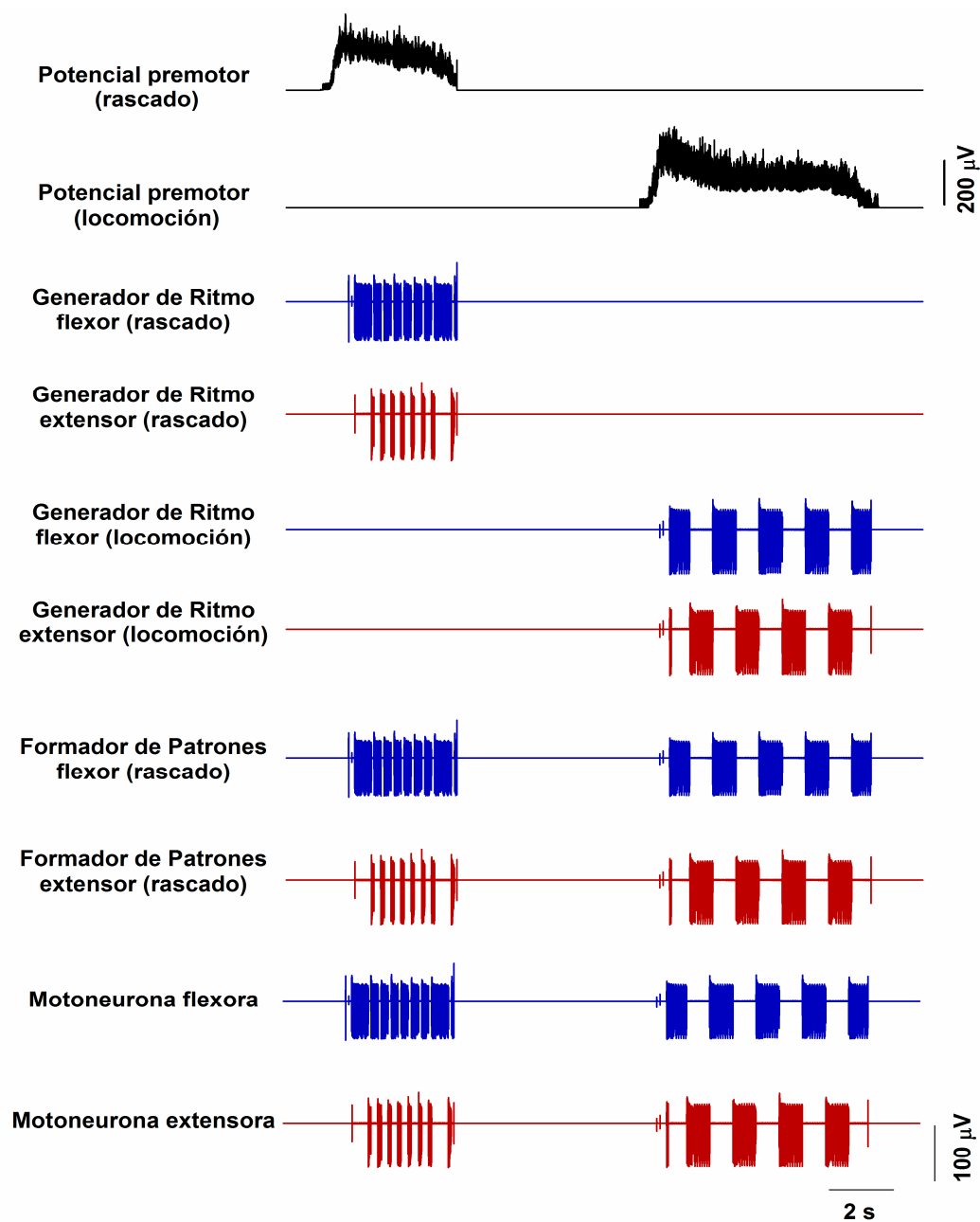


Figura 60. Simulación de un episodio de locomoción post-rascado usando el modelo propuesto. Los dos trazos superiores corresponden a la actividad poblacional de los hemicentros premotores de locomoción y rascado respectivamente. El resto corresponde a la actividad de unitaria que pertenece al grupo señalado. La simulación extracelular fue obtenida por medio de la segunda derivada de la actividad intracelular.

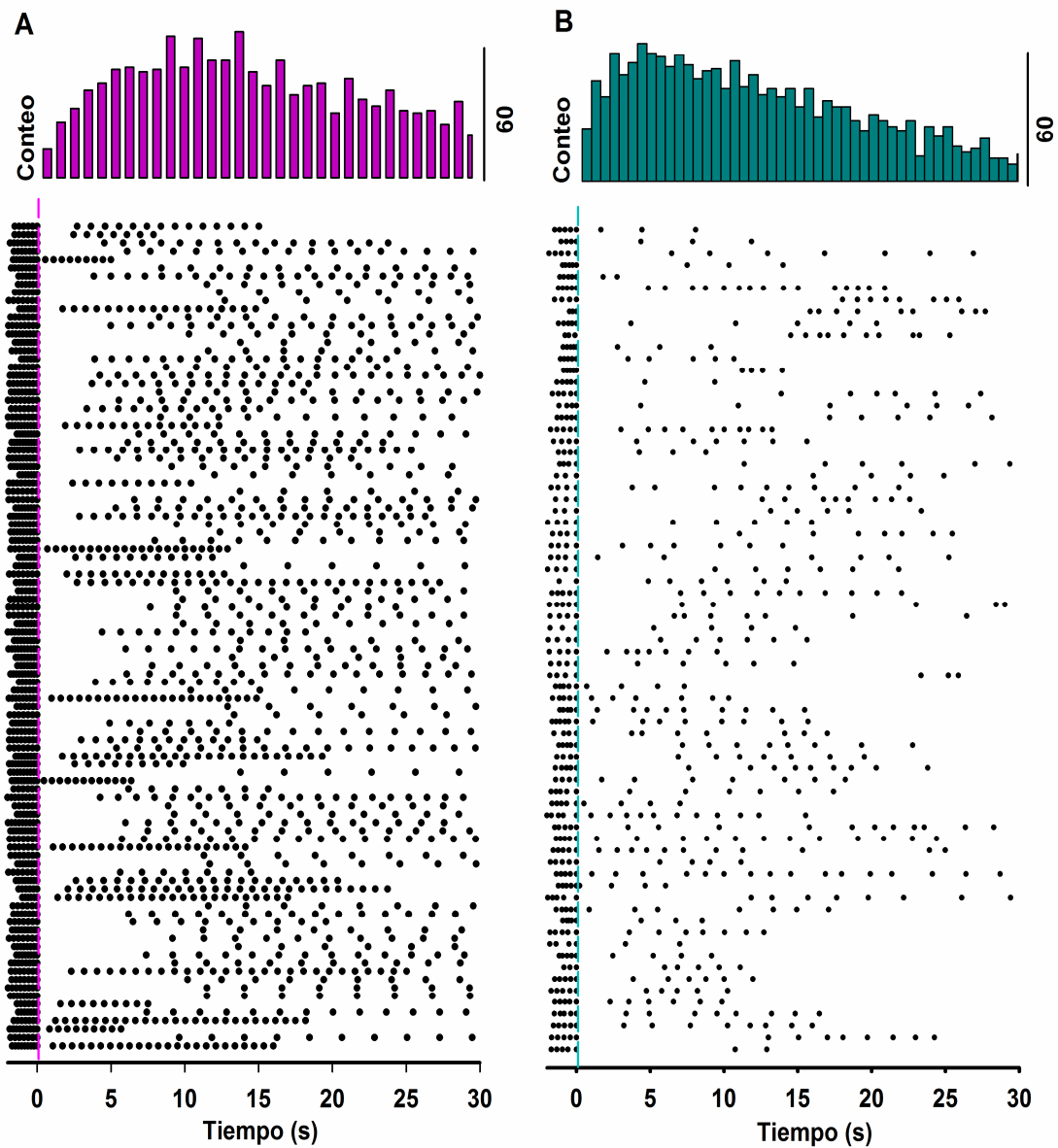


Figura 61. Comparación entre los rastros de la actividad modelada (A) y experimental (B) durante el rascado y la locomoción post-rascado. Nótese el parecido entre ambas gráficas y la distribución de las descargas locomotoras. Los histogramas en la parte superior representan el tiempo de inicio de la locomoción post-rascado después de finalizar el episodio de rascado (tiempo 0).

DISCUSIÓN

En el presente trabajo usamos el gato descerebrado a nivel precolicular-premamilar. Una vez que la locomoción espontánea es abolida o reducida, se aplicó curare tópicamente en los segmentos cervicales C1-C2, y es entonces que después de la estimulación manual de la región auricular y pericefálica, se presentó un episodio de rascado seguido de episodios de locomoción. A éste fenómeno lo nombramos locomoción ficticia post-rascado. Además, describimos al mismo fenómeno en el gato intacto.

En los experimentos realizados se observó una alta incidencia de episodios de locomoción ficticia post-rascado, esta fue de 73.8% y únicamente el 27.2 % del total de los episodios de rascado ficticio no fueron seguidos de actividad locomotora.

CARACTERIZACIÓN FENÓMENO DE LOCOMOCIÓN FICTICIA POST-RASCADO

El prurito se define como una sensación no placentera que provoca el rascado (Ekblom, 1995). Aunque el prurito es un síntoma subjetivo, el rascado es un correlato objetivo (Savin, 1998; Brash y cols., 2005). En los gatos es un comportamiento instintivo que no puede ser detenido. Por lo tanto en el gato el rascado está considerado como un comportamiento repetitivo en el cual la extremidad posterior del animal se dirige típicamente hacia la cabeza, cuello y parte rostral del cuerpo. En el presente trabajo se describió la transición secuencial de rascado a locomoción, tanto en gatos descerebrados como en gatos

intactos. Hasta nuestro conocimiento, no se había descrito algún otro ejemplo de la transición de rascado a locomoción, por lo que éste trabajo de investigación es la primera evidencia experimental del fenómeno de locomoción post-rascado.

En los experimentos realizados se midió la latencia entre el final del episodio de rascado ficticio y el inicio de la locomoción post-rascado. Se encontró que la locomoción post-rascado ocurre con una latencia media de 7.2 ± 4 s después del episodio de rascado ficticio. Esta latencia entre ambas tareas motoras es larga y además se encontraron latencias de hasta más de 20 segundos lo cual podría explicar el por qué éste fenómeno no fue observado en estudios previos, aun cuando la locomoción y el rascado han sido previamente registrados en el mismo experimento (Degtyarenko y cols., 1998; Perreault y cols., 1999; Stecina y cols., 2005; Lafreniere-Roula y McCrea, 2005; Frigon y Gossard, 2009, 2010). Además, podría ser que en experimentos previos el tiempo de registro post-rascado fue relativamente corto como para poder observar este fenómeno. De hecho, después de reanalizar cuatro experimentos previos (Cuellar y cols., 2009; Perez y cols., 2009) con una ventana de tiempo más grande, encontramos el fenómeno de locomoción post-rascado aproximadamente en el 70% del total de episodios de rascado.

En los paradigmas experimentales previos (en los cuales se registró rascado y locomoción en el mismo experimento) los métodos usados para producir locomoción fueron diferentes al empleado en el presente estudio, por ejemplo, en ciertos experimentos se usó la estimulación de la región locomotora mesencefálica (Degtyarenko y cols., 1998, Lafreniere-Roula y McCrea, 2005, Stecina y cols.,

2005), estimulación de la RLM y administración de fármacos (Perreault y cols., 1999). En otros estudios se usó la preparación del gato descerebrado a nivel precolicular-premamila. Sin embargo, en la presente tesis se estimuló intencionalmente la oreja de los animales después de registrarse un episodio de locomoción (Frigon y Gossard, 2009, 2010). Es importante denotar que en éste trabajo de tesis se estudió la actividad locomotora que ocurre después del episodio de rascado ficticio, sin que el experimentador aplique una estimulación intencional para provocar una segunda actividad motriz como fue el caso del método usado por Frigon y Gossard (Figura 62).

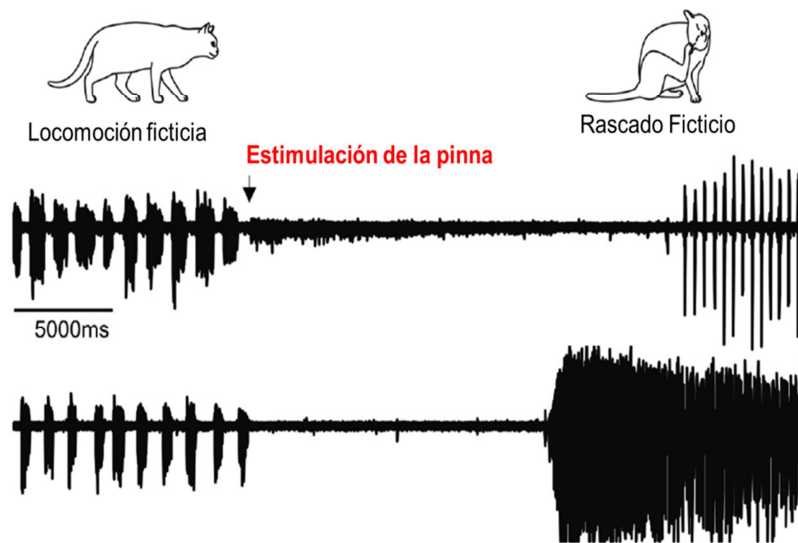


Figura 62. Episodio de locomoción ficticia seguido de un episodio de rascado ficticio. Nótese que para que el rascado ficticio se presente, se aplicó una estimulación en la región de la pinna (Modificado de Frigon y Gossard, 2010).

EL INCREMENTO EN LA EXCITABILIDAD DEL SNC PODRÍA EXPLICAR EL FENÓMENO DE LOCOMOCIÓN POST-RASCADO

El hecho de que en el gato descerebrado se presente una secuencia motora, rascado seguido de locomoción, puede explicarse por la aplicación tópica de D-tubocurarina en los segmentos espinales C1-C2, lo cual se realizó con la finalidad de producir rascado. En dicha preparación la locomoción espontánea se encuentra abolida; la aplicación de curare podría entonces incrementar la excitabilidad de las neuronas que el GCP de la locomoción y el GCP del rascado comparten. En otras palabras, el fenómeno que se reporta en el presente trabajo de tesis implica el cese de la activación de un grupo neuronal que conduce a la activación del otro grupo neuronal. Estos grupos de neuronas incrementan su excitabilidad en presencia de D-tubocurarina, por lo que se produce locomoción después de un episodio de rascado ficticio.

Además de sus efectos en la transmisión neuromuscular, el curare tiene un claro efecto excitatorio en el sistema nervioso central (Bernhard y Taverner, 1951), cuando se inyecta vía intravenosa (Cohnberg, 1946; Bernhard y Taverner, 1951; Bernhard y cols., 1951), vía tópica (Feldberg y cols., 1956), además de que su aplicación intraventricular tiene claros efectos en el incremento de la actividad motora (Feldberg y cols., 1956). Eccles (1946) aplicó curare en la médula espinal de la rana y encontró que dosis altas producen una actividad tipo convulsiva sostenida. Además, en el gato descerebrado, decapitado, espinalizado y deaferentado se encontró que la inyección intravenosa de curare incrementa la amplitud del reflejo monosináptico extensor (Bernhard y Taverner, 1951). En

gatos descerebrados y anestesiados, la D-tubocurarina aplicada tópicamente en los segmentos espinales C1-C2 produce y facilita el reflejo del rascado (Feldberg & Fleischhauer, 1960; Domer y Felberg, 1960; Deliagina y cols., 1983; Berkinblit y cols., 1978). Estos resultados sugieren una activación selectiva de neuronas propioespinales descendentes en la columna lateral de la médula espinal, las cuales median el reflejo del rascado (Feldberg & Fleischhauer, 1960). Es plausible que la facilitación del reflejo del rascado active selectivamente a neuronas inhibitorias que participan en el cese o reducción de la locomoción ficticia espontánea, pero no de la locomoción post-rascado.

TRANSICION ENTRE TAREAS RITMICAS EN DIFERENTES PREPARACIONES Y ESPECIES ANIMALES

Literatura previa muestra la secuencia de ciertos comportamientos en vertebrados e invertebrados, ya sea espontáneos o después de un estímulo. Por ejemplo, en el cangrejo de río el comportamiento de escape es seguido de nado rítmico. Reichert y cols. (1981) interpretaron este comportamiento como una actividad extensora que ocurre como un tipo de reflejo encadenado después de una flexión mediada por un circuito GCP.

Otras preparaciones usando animales descerebrados podrían ser de gran ayuda para explorar la interacción entre los circuitos espinales que generan locomoción y rascado. Recientemente, Berkowitz y su grupo encontraron que la

tortuga exhibe fuertes interacciones entre los circuitos de locomoción y rascado que se encuentran en la médula espinal (Hao y cols., 2011).

Por otra parte, otros trabajos usando etogramas han mostrado diferentes secuencias de movimientos presentes en comportamientos naturales tales como el cortejo, la pelea y tareas motoras. Desde 1915, Sturtevant reportó una secuencia de movimientos en la selección sexual de la *Drosophila*, que consiste en que si dos machos están cortejando a la misma hembra abren sus alas, corren uno hacia el otro, topan sus cabezas y eventualmente uno de los machos escapa.

Diversos trabajos en el grillo han mostrado que durante la pelea se sigue una cadena de movimientos estereotipados, tal como ciertos rituales (contacto con las antenas) al inicio y combate físico hacia el final (Hofmann y Schildberger 2001; Sakura y cols., 2012).

Los etogramas y análisis secuenciales para estudiar el comportamiento agresivo en la mosca de la fruta han demostrado que existen patrones recurrentes en éste comportamiento y que son similares a aquellos que se presentan durante el cortejo, por ejemplo, las peleas en las moscas usualmente constan de tres patrones de comportamiento que forman un ciclo: acercamiento lento, acercamiento rápido y amenaza con las alas (Chen y cols., 2002).

Blaesing y Cruse (2004) encontraron que el comportamiento para cruzar un espacio en el insecto palo consiste de actividad motora que es seguida por un intervalo de exploración para examinar el espacio con las antenas y las patas delanteras.

En los mamíferos también se han descrito secuencias de movimientos, por ejemplo en las ratas ciertas cadenas de comportamiento ocurren durante el aseo. Estas cadenas consisten de hasta 25 diferentes acciones diferentes dentro del patrón de aseo estereotipado, además se ha mostrado que éste patrón es compartido por diferentes especies de roedores (Berridge, 1989).

Sugerimos que las secuencias en la generación de patrones que se reportaron en el presente trabajo de tesis pueden ser explicadas por la acción secuencial de comandos supraespinales del tallo encefálico, los cuales generan una gran variedad de movimientos por medio de la selección de diferentes combinaciones de módulos espinales (Roh y cols., 2011).

Por medio de la estimulación del tectum en la lamprea, se encontró que pueden ocurrir diferentes tipos de transiciones motoras en el ojo, tronco y locomoción (Kazuya y cols., 2007; Kozlov y cols., 2009). Grillner denominó a este tipo de comportamiento control tectal de la locomoción, dirección y movimiento de los ojos (Kazuya et al., 2007). Dado que en ésta preparación se aplicaron intencionalmente diferentes estímulos, no fue posible medir la transición entre diferentes clases de movimientos y la locomoción (Kazuya y cols., 2007; Kozlov y cols., 2009). En tales estudios, el experimentador cambió el tipo de movimiento de acuerdo a las características del estímulo aplicado en el tectum, sin embargo, en el caso de la locomoción post-rascado se observa que la transición de rascado a marcha ocurre sin ninguna clase de estímulo para producir locomoción.

La inconveniencia de que un gato no altere la respuesta después de ver a un distractor mientras se rasca, implica la posibilidad de que algunas entradas sensoriales (de tipo nociceptivo) podrían afectar el fenómeno de locomoción post-rascado, pero otras entradas sensoriales no lo haría. Experimentos futuros serán necesarios para descartar esta posibilidad.

Por otra parte, la evidencia mostrada en ésta tesis es consistente con la obtenida a partir de modelos robóticos que reproducen la transición de una tarea rítmica a otra. Por ejemplo, se ha reproducido la transición de nado a la caminata en la salamandra con las subyacentes modificaciones en los circuitos motores para la transición de una forma de locomoción acuática a una terrestre. La transición de una actividad rítmica a la siguiente se indujo por medio de la modulación de la estimulación de un análogo de la RLM (Ijspeert y cols., 2005, 2007, 2008).

El hallazgo de locomoción post-rascado es consistente con otro tipo de transiciones, tales como las que involucran a receptores nociceptivos y reflejos de protección. Las aferentes nociceptivas transmiten información acerca de estímulos nocivos y envían señales a la médula espinal, en el asta dorsal, en las láminas de Rexed I y II. Existen respuestas de comportamiento ante estímulos nocivos, como es el caso de la respuesta de “escape”, la cual no requiere de un sistema nervioso complejo o de una alta capacidad cognoscitiva. La respuesta de escape en el pez cebra consiste en una secuencia motora después de un estímulo: Primero, un doblez del cuerpo en forma de “C”, seguido de una rotación de cuerpo y finalmente, de nado a alta frecuencia (Gahtan y cols, 2002). Estas repuestas

pueden presentarse sin concientizar el estímulo nocivo, pero deben estar mediadas por la médula espinal o el tallo encefálico (Rose 2002). Sin embargo, otros estudios sugieren que las respuestas de los peces ante estímulos nocivos, no se tratan únicamente de una respuesta refleja, si no que involucran percepción del dolor y procesos cognitivos elevados (Segner, 2012).

Es importante denotar este tipo de comportamiento ya que éste mecanismo evolutivo puede ligarse al fenómeno que hemos estudiado en el gato. Recientemente, nuestro grupo de trabajo publicó un estudio que apoya esta posibilidad (Tapia y cols., 2013). Se determinó que la formación reticular del gato contiene células que se activan aproximadamente 0.8 segundos antes del inicio de un episodio de rascado, por lo cual especulamos que estas células podrían estar involucradas en el fenómeno de locomoción post-rascado.

INTERNEURONAS ACTIVAS DURANTE DOS TAREAS RÍTMICAS

Diversos trabajos experimentales apoyan la idea de neuronas multifuncionales y de reconfiguración de circuitería para llevar a cabo diferentes tareas rítmicas (Briggman y Kristan, 2006; Weimann y Marder, 1994; Meyrand y cols., 1991; Jing y Weiss 1992; Pospescu y Frost, 2002). La transición de una tarea motora a otra, así como el incremento en la velocidad de dicha tarea, involucra una reconfiguración de la red neuronal. Dicha reconfiguración involucra diferentes mecanismos: el cambio en la propiedades de las neuronas activas, reclutamiento neuronal y/o el silenciamiento de las neuronas activas (Frigon, 2009). En el renacuajo (*Xenopus laevis*), el nado y el forcejeo comparten

elementos neuronales. Sin embargo, existe un reclutamiento selectivo de interneuronas durante el forcejeo. Es interesante denotar que algunas neuronas localizadas en el cerebro medio y parte rostral de la médula espinal son selectivamente reclutadas durante el nado, pero se encuentran silentes durante la actividad del forcejeo (Li y cols., 2007). En el estadio larvario del pez cebra, las motoneuronas más pequeñas están localizadas más ventralmente que las de mayor tamaño. Las motoneuronas ventrales y las interneuronas excitatorias se activan rítmicamente durante frecuencias de nado bajas. Cuando la frecuencia del nado se incrementa, se reclutan mayor número de neuronas dorsales. Sin embargo, las interneuronas inhibitorias siguen un patrón opuesto (McLean y cols., 2007). Además, en éste modelo experimental existen 4 clases de interneuronas de tipo glicinérgico inhibitorio que están activas tanto durante el nado, como en el escape y el forcejeo (Liao y Fetcho, 2008).

Diferentes estudios sugieren que los movimientos de las extremidades en vertebrados son producidos por redes localizadas en la médula espinal cuyos componentes neuronales se comparten. Por ejemplo, la médula espinal es capaz de generar tres tipos de rascado cuando se estimula tres regiones adyacentes del cuerpo (Mortin y cols., 1985). Aún si existe un cierto número de neuronas activas en el rascado así como en otra tarea motora, no toda la red de rascado y locomoción se comparte (Berkowitz, 2002b). En este contexto, la evidencia existente en el gato indica una regulación diferente del ciclo, duración de la fase y transición entre fases de la locomoción en comparación con el rascado; lo que

sugiere la existencia de mecanismos generadores de ritmo especializados para cada tarea motora (Frigon y Gossard, 2010).

LOS GENERADORES CENTRALES DE PATRONES DEL RASCADO Y LA LOCOMOCIÓN COMPARTEN ELEMENTOS NEURONALES

La hipótesis de que los generadores centrales de patrones comparten elementos neuronales ha sido fuertemente apoyada por trabajos experimentales en los cuales se registra la actividad unitaria de interneuronas. En los mencionados trabajos, ciertas interneuronas dispararon rítmicamente tanto en la actividad motora del nado como durante el rascado (Berkowitz y Stein, 1994; Berkowitz, 2001a,b; Berkowitz, 2002). Además se ha encontrado que la actividad rítmica de interneuronas registradas durante tres formas diferentes de rascado se incrementa principalmente durante una fase de la flexión ipsilateral de la cadera, lo que sugiere que algunas de estas neuronas podrían contribuir a la generación del ritmo de la cadera en las tres formas de rascado, lo que apoya a la idea que la circuitería generadora de patrones involucrada en diferentes comportamientos motores se superpone una con la otra (Berkowitz, 2001a).

Una posibilidad que no debe excluirse es que el GCP del rascado y el GCP de la locomoción post-rascado podrían compartir el circuito formador de patrones, pero no el generador de ritmo, esto de acuerdo al modelo de McCrea y Rybak (McCrea y Rybak, 2008). Esta posibilidad es apoyada por los hallazgos experimentales descritos en esta tesis; el rascado y la locomoción post-rascado

ocurren siempre a diferentes frecuencias, sin embargo, el mismo nervio flexor y extensor (y posiblemente las mismas motoneuronas) exhiben rascado o locomoción post-rascado. Es necesario llevar a cabo experimentos para confirmar que las mismas motoneuronas pueden estar activas durante el rascado y la locomoción post-rascado y de esta forma confirmar la hipótesis de que ambos GCP pueden compartir circuitos formadores de patrones.

Hart y Giszter, 2012 (Hart y Giszter, 2004; Giszter y Hart, 2013) encontraron que algunos grupos de interneuronas localizadas en el núcleo intermedio de la médula espinal pueden organizar a lo que denominaron “primers” espinales individuales (Por ejemplo, comandos premotores de una duración fija que se reclutan en un grupo de músculos, produciendo patrones de fuerza específicos). Los mencionados autores mostraron que las interneuronas y sus “primers” se comparten en diferentes tareas motoras. El hallazgo de locomoción post-rascado es consistente con el trabajo de Hart y Giszter. Podemos especular que ambos comportamientos motores, rascado y locomoción post-racado, pueden ser generados por el mismo grupo de interneuronas y sus “primers”.

Un GCP puede ser visualizado como un circuito, las neuronas que lo constituyen producen un tipo de actividad específico y están coordinadas entre ellas. Dicha actividad y coordinación pueden cambiar cuando el circuito interactúa con otro circuito, de modo que se adapta a la actividad del otro (Bucher y cols, 2006).

En diversos trabajos se ha encontrado que existen grupos neuronales que se comparten en la generación de dos tareas rítmicas diferentes. Por ejemplo, el ganglio estomatogástrico de los crustáceos es capaz de producir dos patrones motores, el ritmo gástrico y el ritmo pilórico, ambos con diferentes periodos, el primero de aproximadamente 5-10 segundos (oscilador lento) y el segundo de 1 a 2 segundos (oscilador rápido, Weimann y cols., 1991). Las neuronas de éste ganglio son capaces de cambiar de un patrón motor a otro dependiendo de las entradas moduladoras o sensoriales (Marder y cols., 2005). Se ha encontrado que la modulación del oscilador lento es por medio de sus propias neuronas y sinapsis, pero además, por la acción indirecta del oscilador rápido y sus conexiones sinápticas con el oscilador lento (Marder y cols., 1998).

Además se ha encontrado un gran número de interneuronas que están activas tanto en el ritmo gástrico, como en el ritmo pilórico, lo que sugiere que las neuronas gástricas y pilóricas no son grupos separados que generan de forma independiente diferentes comportamientos (Weimann y cols., 1991), sino se han caracterizado como un grupo de neuronas cuyos componentes son reclutados para formar parte de múltiples circuitos centrales generadores de patrones (Weimann y Marder 1994; Weimann y cols., 1991). Estos grupos de neuronas no son solo “seguidoras”, sino son partes integrales de los GCP. Cuando las neuronas del ganglio estomatogástrico cambian su patrón de disparo, funcionan como parte del circuito que genera al nuevo ritmo (Weimann y Marder 1994).

Asimismo, se han descrito un gran número de patrones motores en presencia de diferentes neuromoduladores (Marder and Weimann, 1992). En

éste contexto, se encontró que el marcapasos del GCP del ganglio estomatogástrico está constituido por tres neuronas: dos neuronas del dilatador pilórico y una interneurona anterior. La interneurona anterior tiene un papel dominante en la generación de ritmo (Abbott y cols., 1991). Estas neuronas se encuentran acopladas eléctricamente y se despolarizan sincrónicamente, sin embargo, responden de manera diferente a entradas neuronales y a neuromoduladores específicos. Es decir, a pesar de que el acople eléctrico produce una actividad sincrónica, pueden ser moduladas de manera independiente (Marder y Eisen, 1984).

Podemos especular que los circuitos espinales que generan a la locomoción post-rascado comparten grupos neuronales con aquellos circuitos que general el rascado. Esta idea es consistente con la hipótesis de que la circuitería para la generación de patrones de diferentes tareas rítmicas está constituida por interneuronas que se comparten (Stein 2005).

En el presente trabajo de tesis se registraron interneuronas que se encuentran rítmicamente activas durante el rascado ficticio y durante la locomoción ficticia post-rascado. Además, se encontró que éstas interneuronas disparan durante la misma fase, extensora, flexora o intermedia, en ambas actividades rítmicas. En concordancia con los resultados anteriormente descritos, se ha demostrado la existencia de interneuronas que están activas durante tres diferentes formas de rascado, más aún, algunas interneuronas están rítmicamente activas durante tres formas de rascado y durante el nado, mientras que otro grupo

solo disparan durante las formas de rascado, pero no durante el nado (Berkowitz y Stein 1994, Berkowitz 2001a,b; Berkowitz 2002; Berkowitz 2008).

Dado que todas las interneuronas que fueron registradas disparan en la misma fase tanto en rascado como durante la locomoción post-rascado, podemos especular que dichas interneuronas son compartidas por los circuitos espinales de locomoción y de rascado. Sin embargo, ya que ciertos reportes sugieren que la circuitería generadora de ritmo para rascado y locomoción difiere (Frigon y Gossard, 2010), ésta especulación deberá ser estudiada con más detalle en futuros estudios. En el presente trabajo no podemos concluir que los circuitos que producen locomoción y rascado son los mismos, pero sí que comparten elementos neuronales.

ONDAS DE POTENCIAL ELÉCTRICO SINUSOIDAL A LO LARGO DE LA MÉDULA ESPINAL

En este trabajo de tesis, se describió que durante la locomoción ficticia post-rascado se registran ondas de potencial eléctrico sinusoidal (PDMs) que se distribuyen a lo largo de los segmentos espinales L4-S1. Encontramos dos tipos de patrones de actividad de dichos PDMs. El primer patrón de PDMs, propagan de segmentos rostrales a caudales de la médula espinal. El segundo patrón de PDMs es de tipo estacionario; es decir, los PDMs no propagan.

En trabajos anteriores de nuestro laboratorio se describió que las ondas eléctricas sinusoidales registradas durante el rascado ficticio propagan de los

segmentos más rostrales a los segmentos más caudales de la médula espinal (Cuellar y cols, 2009; Perez y cols. 2009). Estudios anteriores muestran la activación secuenciada de motoneuronas en gatos (Yakovenko y cols., 2002) y humanos (Ivanenko y cols., 2006), así como en otras especies animales (Bonnot y cols., 2002; Falgaroille y Cazalets, 2007; Ho y O'Donovan, 1993; Orlovsky y cols., 1999, Cohen, 2006, Cohen y Wallen, 1980).

Tresch y Kiehn (2009) determinaron que las interneuronas relacionadas con la actividad de la raíz ventral durante la locomoción en la rata están localizadas en las cercanías de las motoneuronas que proyectan a la raíz ventral. Además sugirieron que existe un gradiente rostrocaudal en la actividad ritmogénica de dichas interneuronas, de modo que las redes neuronales que producen locomoción no están restringidas a un segmento, sino distribuidas a lo largo de la médula espinal.

De esta misma forma, en el modelo de locomoción “suspendida” en el gato espinalizado, se describió que la actividad de las interneuronas registradas no propaga rostro-caudalmente, más aún la actividad poblacional de interneuronas se comporta como una onda “estacionaria” (Au Yong y cols., 2011a; Au Yong y cols., 2011b). El hecho que en nuestra preparación encontramos tanto PDMs propagantes como estacionarios es consistente con la literatura sobre la existencia de gradientes rostrocaudales en la actividad de motoneuronas e interneuronas, pero también con los trabajos en la locomoción “suspendida” en el gato. Es plausible que las interneuronas “se comporten” de manera diferente dependiendo del tipo de preparación (Au Yong, 2011b). Los PDMs estacionarios podrían ser explicados por la falta de retroalimentación aferente, como es el caso de la

locomoción “suspendida”, donde el gato no tiene contacto con el piso, además de que es necesaria la estimulación perianal y la aplicación de fármacos.

VÍAS DESCENDENTES

El hecho de que el rascado es un ritmo unilateral mientras que la locomoción es una actividad motora bilateral sugiere diferencias en la arquitectura de sus correspondientes GCPs. Además, sugerimos que el rascado y la locomoción post-rascado se originan de diferentes estructuras supraespinales. Existen muchas observaciones que apoyan ésta hipótesis, por ejemplo, la estimulación de vías descendentes que producen locomoción (MLR) produce ritmo motor coordinado, bilateral en las cuatro extremidades; mientras la estimulación de las vías descendentes para el rascado producen ritmo unilateral en una extremidad. Asimismo, es plausible que las mismas estructuras que producen locomoción espontánea pueden producir locomoción post-rascado. Algunas de éstas estructuras han sido descritas en la literatura (Orlovsky y cols., 1999).

Se ha establecido que las señales de un campo receptivo específico pueden activar el GCP para el rascado a través de neuronas propioespinales, las cuales están activas tónicamente durante el rascado ficticio (Berkinblit y cols., 1977). La locomoción también puede ser inducida por medio de un extenso sistema polisináptico propioespinal denominado cintilla locomotora; la cual comprende el tegmento lateral desde la región locomotora mesencefálica hasta

neuronas propioespinales en la médula espinal cervical (láminas V-VIII). Estas interneuronas propioespinales activan a circuitos locomotores localizados caudalmente por medio de sus axones que descienden por vías ventrolaterales. La destrucción de la materia gris cervical dejando intactas las vías ventrolaterales abole la locomoción producida por la estimulación de la RLM (Seniolov y Shik, 1984; Shik, 1983).

La RLM proyecta hacia la formación reticular (Ryczko y Dubuc, 2013), y esta a su vez proyecta a la médula espinal por vías ventrolaterales. El enfriamiento de la formación reticular bloquea la locomoción producida por estimulación de la RLM (Rossigol, 1996). El ritmo de rascado puede ser producido por la activación de un sistema de neuronas localizadas en la región del óbex (Tapia y cols., 2013), las cuales son neuronas comando de tipo encendido-apagado y apagado-encendido que presumiblemente envían información descendente por vías retículo espinales para activar al GCP del rascado.

MODELO COMPUTACIONAL

En ésta tesis se desarrolló un modelo computacional del Generador Central de Patrones para explicar la transición de rascado a locomoción en el gato. En el mencionado modelo se propone la existencia de un hemicentro, presumiblemente localizado a nivel supraespinal, éste está formado por un grupo asociado al inicio del rascado y otro relacionado con el inicio de la locomoción. Cada grupo provee respectivamente entradas sinápticas a un hemicentro que produce rascado y otro que produce locomoción. Ambos hemicentros estarían localizados a nivel espinal,

tienen generadores de ritmo distintos, pero tienen un generador de patrones en común.

Anteriormente la transición de una tarea rítmica a otra se modeló en robots. Éste modelo simula la transición automática de nado a caminata por medio de la estimulación eléctrica de un equivalente de la RLM (Ijspeert y cols., 2005; 2007; Ijspeert, 2008). En este contexto, en este trabajo se obtuvo un modelo que reproduce a los hallazgos experimentales de la locomoción post-rascado por medio de una circuitería generadora de patrones “encadenada” con la estructura propuesta en reportes previos (Cuellar y cols., 2009; Perez y cols., 2009).

En nuestro modelo, sugerimos la existencia de dos grupos neuronales localizados a nivel supraespinal, uno responsable del inicio del rascado y el otro del inicio de la locomoción post-rascado. Estudios anteriores sugieren que diferentes tareas motoras están mediadas por diferentes comandos provenientes de estructuras supraespinales. Li y cols. (2007) describieron una región pequeña localizada en la parte caudal del tallo encefálico y rostral de la médula espinal que es capaz de generar la actividad rítmica del nado cuando en respuesta a un estímulo breve. Las neuronas localizadas en ésta región presentan entre ellas conexiones recíprocas de tipo excitatorio. Además de que tienen axones que descienden ipsilateralmente y presentan potenciales de acción de larga duración. Es importante denotar que durante el forcejeo o lucha, estas neuronas presentan una activación muy débil o están completamente silentes. Por otra parte, en éste modelo experimental existen otro tipo de neuronas con axones descendentes que se encuentran localizadas en las mismas regiones (tallo cerebral y médula

espinal), pero que sólo se activan durante el forcejeo, además de tener diferir con aquellas que solo se activan durante el nado en que presentan un potencial de acción de corta duración y disparan repetitivamente cuando son despolarizadas por la inyección de corriente (Li y cols., 2007). Asimismo, las neuronas del ganglio somatogástrico de crustáceos son capaces de cambiar de un patrón motor a otro dependiendo de las entradas moduladoras o sensoriales (Marder y cols., 2005).

Por otra parte, en el modelo experimental del estado larvario del pez cebra, todavía no ha sido determinado si el nado, el escape y el forcejeo son iniciados por el mismo comando descendente o cada uno es iniciado por un comando específico. Es posible que un solo comando sea el responsable del inicio de las tres actividades locomotoras y que dinámicamente interactúe con entradas sensoriales periféricas e nivel espinal que den forma a la configuración específica que se requiera. Esto podría ser una diferencia con otras especies o podría deberse a que los comandos excitatorios para el inicio de cada tarea rítmica todavía no han sido identificados (en Frigon, 2010).

El modelo que se propone en ésta tesis reproduce el cambio de una tarea motora, el rascado, a otra, la locomoción post-rascado. En otros modelos el cambio de una tarea motora a otra ha sido explicado por medio de la estimulación de la RLM. Una estimulación abajas intensidades induce la caminata mientras que una estimulación con mayor intensidad produce un rápido cambio al nado (Ijspeert y cols., 2007). Más aún, la estimulación simultanea para producir nado y rascado en la tortuga produce nado, aceleración del ritmo de nado, ciclos híbridos de rascado-nado o cese completo del ritmo (Berkowitz y Hao 2011).

En nuestro modelo proponemos que la transición de rascado a locomoción está dada por la activación e inactivación de grupos neuronales específicos. Las neuronas del hemicentro premotor relacionadas al inicio del rascado activan al GCP del rascado. Debido a un efecto de fatiga, las neuronas del hemicentro premotor de rascado dejan de disparar, lo cual libera de la inhibición al hemicentro premotor de la locomoción, por lo que sus neuronas empiezan a disparar y a su vez activan al GCP espinal de la locomoción. En el modelo proponemos que la capa formadora de patrones se comparte en ambos GCP's, es decir, las neuronas pertenecientes a esta capa se encuentran disparando en ambas tareas motoras. Sin embargo, las neuronas pertenecientes al generador de ritmo del rascado son inactivadas y se "reclutan" aquellas pertenecientes al generador de ritmo de la locomoción.

La transición de una tarea motora hacia otra, por ejemplo, aumentar la velocidad de la locomoción, conlleva una reconfiguración funcional de la red, de tal forma que una actividad rítmica no se superponga a la siguiente. Dicha reconfiguración se lleva a cabo por el silenciamiento de algunas de las neuronas activas, el reclutamiento de otras neuronas, por el cambio en las propiedades de las neuronas ya activas y además involucra transiciones entre las neuronas excitatorias e inhibitorias (Frigon, 2009).

El nado en la lamprea se lleva a cabo por medio de una serie de ondas viajeras en el cuerpo, con alternancia izquierda y derecha. En conjunto producen una "onda" de contracción para el desplazamiento en el agua. Un aumento en la frecuencia de las ondas viajeras resultará en un incremento en la velocidad de la

locomoción (Cohen, 2006). El patrón de actividad del GCP en la preparación de médula espinal aislada presenta todas las características del patrón observado en el pez intacto. Se ha demostrado que la capacidad de generar actividad rítmica con coordinación intersegmental está distribuida a lo largo de la médula espinal. Asimismo, se encontró que el número mínimo de segmentos espinales para producir la coordinación rítmica es de 4. Los circuitos neuronales de éstos cuatro segmentos podrían estar conectados de tal manera que constituyen una parte integral de la red GCP (Cohen y Wallen, 1980).

El GCP es visualizado como una cadena de osciladores no lineales acoplados a lo largo de la médula espinal. Los GCP constituyen entonces generadores de ráfagas segmentales coordinados por vías ascendentes y descendentes (Cohen y Kiemel, 1993). El acople entre segmentos espinales está organizado por medio de neuronas intersegmentales. Los osciladores rostrales y caudales del GCP presentan frecuencias diferentes cuando se aíslan uno del otro. Por lo tanto, el sistema debe mantener a los osciladores segmentales del GCP en una frecuencia común (Cohen, 1987). El acople ascendente es dominante sobre el acople descendente y controla el desfase intersegmental durante la locomoción (Cohen y cols., 1992).

Diversos trabajos en especies inferiores han evidenciado la reconfiguración de las redes neuronales para producir diferentes tareas motoras. En el renacuajo, algunas motoneuronas e interneuronas inhibitorias están activas tanto durante el nado como durante el forcejeo, pero otras pertenecen específicamente a un circuito, por ejemplo existen dos tipos de interneuronas excitatorias que son reclutadas únicamente durante el forcejeo (Li, 2007).

Li y cols. (2007) modelaron una red neuronal capaz de reproducir el patrón lento de disparo durante el forcejeo (intento de escape) con la finalidad de determinar los mecanismos funcionales involucrados en la reconfiguración funcional. Dicho modelo incluyó a tres tipos diferentes de neuronas activas durante el forcejeo, las cuales presentan ligeras diferencias en sus características. Éste modelo es de tipo hemicentro y es activado por dos neuronas comando para producir actividad alternada derecha e izquierda, dentro del rango observado en el forcejeo. Ni la inhibición recíproca ni la recurrente fueron suficientes para terminar con la descarga de las neuronas en el modelo. En consecuencia, los autores incluyeron un mecanismo de depresión sináptica en la vía comisural recíproca, lo que produce la actividad alternante lenta característica del forcejeo. Esta depresión sináptica presente en el forcejeo, pero no en el nado demuestra como la reconfiguración de una red lleva a ciertas neuronas a cambiar sus propiedades para adecuarse a la nueva tarea motora.

Liao y Fetcho (2008) encontraron en el modelo experimental del pez cebra, que el nado, el escape y el forcejeo son generados por combinaciones específicas de interneuronas inhibitorias comisurales. Más aún, dentro de una misma tarea, la reconfiguración de una red espinal es necesaria, por ejemplo para incrementar la velocidad. Las interneuronas excitatorias localizadas ventralmente en la médula espinal son reclutadas a velocidades bajas, mientras que las poblaciones de interneuronas localizadas a niveles más dorsales se activan progresivamente a velocidades las altas (McLean y cols. 2007, 2008).

Una pregunta sobre la arquitectura de los GCP del rascado y locomoción es si son fundamentalmente una red espinal independiente dedicada a producir un comportamiento o si por el contrario, se comparten. En este trabajo, proponemos la existencia de dos generadores de ritmo, uno que genera al rascado y el otro que genera la locomoción, y ambos comparten a una capa formadora de patrones.

Pocos trabajos en la literatura sugieren que una población de interneuronas es específica para generar una tarea motora. Ramírez y Pearson (1988) describieron que las motoneuronas del saltamontes están activas tanto durante la caminata como durante el vuelo. Sin embargo estos patrones son generados por dos redes de interneuronas, se ha encontrado que todas las interneuronas relacionadas con el vuelo se encuentran inactivas durante la caminata. Además, todas las interneuronas que están activas durante la caminata se encuentran inactivas, inhibidas o moduladas de una forma muy débil durante el vuelo. En el estadio larvario del pez cebra se han encontrado resultados similares. Por medio de imágenes de calcio se encontraron dos grupos diferentes grupos de interneuronas que participan en nado y el forcejeo (Ritter y cols, 2001).

Por otra parte, la mayoría de las evidencias experimentales apoya la idea de neuronas multifuncionales y reconfiguración de circuitos para llevar a cabo diferentes tareas motoras (Briggman y Kristan, 2006; Weimann y Marder, 1994; Meyrand y cols. 1991; Jing y Weiss 1992; Pospescu y Frost, 2002). Diversos estudios sugieren que el movimiento de las extremidades de los vertebrados es producido por redes que comparten componentes neuronales. La médula espinal de la tortuga puede generar tres formas distintas de rascado en tres regiones

adyacentes del cuerpo cuando se aplica estimulación mecánica (Mortin y cols., 1985). Algunas neuronas contribuyen a la generación del ritmo de la cadera para las tres formas de rascado, lo que apoya la idea de que la circuitería generadora de patrones para diferentes tareas rítmicas se superpone (Berkowitz, 2001). En concordancia con estos resultados un gran número de interneuronas están activas durante el rascado ipsilateral y contralateral (Berkowitz, 2001; Berkowitz, 2002b), durante el rascado ficticio contralateral y el reflejo de retirada ipsilateral (Berkowitz, 2005), durante rascado, nado hacia adelante y reflejo de retirada (Berkowitz, 2002b), con un reducido número de neuronas activas durante rascado pero silenciadas durante el nado (Berkowitz, 2002b). Esta última observación sugiere que aun cuando existe cierto número de neuronas activas tanto durante el rascado como durante otra actividad motora, no toda la red que genera el rascado y la locomoción se comparte. En éste contexto, la evidencia experimental en el gato indica que existe una regulación en el periodo del ciclo, la duración de la fase y las transiciones de fase que difiere del rascado a la locomoción, lo que evidencia la existencia de mecanismos generadores de ritmo especializados para cada tarea motora (Frigon y Gossard, 2010). Asimismo, otros trabajos en el gato muestran una semejanza en los efectos de las entradas aferentes del grupo I sobre la ritmicidad del rascado y la locomoción, lo que apoya la idea de una red neuronal en común.

FRECUENCIA

En el presente estudio observamos que la locomoción post-rascado se encuentra asociada con ondas de potencial eléctrico sinusoidales registradas en el dorso de la médula espinal. Las ondas sinusoidales que se registran durante el rascado ficticio son similares a las descritas por Cuellar y cols. (2009) y aquellas ondas sinusoidales que se registran durante la locomoción post-rascado son similares a las reportadas por Trejo y cols., 2009.

La frecuencia dominante en el espectro de potencia de las ondas de potencial eléctrico sinusoidales registradas durante el rascado ficticio fue de 2.9 ± 0.3 Hz y en nuestros resultados encontramos que dicha frecuencia nunca se superponía o mostraba un pico en el rasgo de frecuencias de las ondas espinales registradas durante la locomoción-post-rascado que fue de 0.98 ± 0.2 Hz. Es decir, existe una transición entre una actividad motora de alta frecuencia (el rascado) a una lenta (la locomoción post-rascado). Se han encontrado resultados semejantes en especies inferiores, por ejemplo en el ganglio somatogástrico de los crustáceos. Este es capaz de producir dos patrones motores, el ritmo gástrico y el ritmo pilórico, ambos con diferentes periodos, el primero de aproximadamente 5 a 10 segundos y el segundo de 1 a 2 segundos (Weimann y cols., 1991).

En este trabajo también comparamos las características de la locomoción espontánea con las de la locomoción post-rascado. Dado que la frecuencia de la locomoción ficticia espontánea (Trejo y cols., SFN, abstr 269.15, 2009) ocurre en el mismo rango de frecuencias que la locomoción post-rascado, además de que

no encontramos diferencia significativa entre la amplitud de dichas ondas, ni entre la duración de los ciclos flexores y extensores de ambos tipos de locomoción, sugerimos que los grupos neuronales involucrados en la generación de la locomoción ficticia espontánea y la locomoción post-rascado son las mismas.

PERSPECTIVAS

En la preparación de gato descerebrado usada en ésta tesis la transición de rascado ficticio a locomoción se parece en gran medida al patrón observado en los experimentos conductuales. De igual forma, los patrones secuenciados del aseo en roedores generalmente se preservan en animales descerebrados (Zor y cols., 2011; Berridge, 1989). Estas preparaciones experimentales son necesarias para definir los mecanismos neuronales subyacentes a la transición de comportamientos que normalmente se expresan en secuencia. El entendimiento de estos mecanismos es pertinente para elucidar la fisiopatología de diferentes enfermedades, ya que en diferentes patologías, los pacientes exhiben un patrón repetitivo, donde el rascado es producido sin la presencia de un estímulo externo aparente (Cyr y Dreher, 2001; Lang y cols., 2010), tal es el caso de la esquizofrenia, el autismo, la ansiedad y el desorden obsesivo-compulsivo.

El desorden obsesivo compulsivo es una patología que se caracteriza por la secuencia innecesaria de comportamientos, estos son repetitivos e irrelevantes y se presentan alternados con los que son caracterizados como relevantes, lo que sugiere, de alguna manera, un tipo de disfunción en los mecanismos responsables

de la transición ininterrumpida entre dos comportamientos. Aun cuando se cree que la disfunción que provoca el desorden obsesivo-compulsivo se encuentra a nivel de los ganglios basales (Hoffman, 2011; Maia y cols., 2008), el presente trabajo en conjunto con los trabajos del aseo en roedores (Zor y cols., 2011; Berridge, 1989) indican que la actividad de los circuitos GCP contribuyen de una forma importante para la transición normal entre comportamientos y por lo tanto, deben ser considerados cuando se establezcan modelos fisiopatológicos del desorden obsesivo-compulsivo. En cuanto a otros padecimientos psiquiátricos, la literatura es aún muy escasa para explicar los mecanismos neuronales que pueden ser responsables de comportamientos rítmicos, repetitivos y estereotipados, sin embargo no se debe descartar la posibilidad de que los mecanismos neuronales sean semejantes.

Asimismo, sugerimos que la transición en la generación de patrones puede ser una estrategia empleada para la rehabilitación, específicamente en el mejoramiento de la actividad locomotora en pacientes con lesiones espinales. Esta estrategia podría ser explorada en pacientes con lesiones en la médula espinal, como un complemento a las técnicas tradicionales usadas por los terapeutas físicos (Field-Fote, 2000), tal como la estimulación eléctrica funcional y soporte del cuerpo durante la caminata. Consistentemente con esta hipótesis, se demostró recientemente que el reflejo H, condicionado operante, puede mejorar la locomoción de una manera exitosa en personas con lesiones parciales de la médula espinal (Chen y cols., 2010; Thompson y cols., 2013). Esperaríamos que la estrategia del condicionamiento del rascado, que activa vías comunes con el

reflejo H, también podría contribuir en el mejoramiento de la locomoción después de lesiones parciales de la médula espinal, como lo demostró Chen y cols., 2010 y Thompson y cols., 2013.

Dada la alta reproducibilidad del fenómeno de locomoción post-rascado, sugerimos que su estudio puede convertirse en una poderosa herramienta para explorar los mecanismos neuronales que subyacen a la transición de una actividad rítmica a otra, y para explorar con mayor detenimiento la conectividad y organización de generador central de patrones en la médula espinal y de las neuronas localizadas en el tallo cerebral.

XI. RESUMEN DE RESULTADOS

A) EXPERIMENTOS ELECROFISIOLÓGICOS

1. los segmentos cervicales C1-C3 no se observa la ocurrencia de ondas de potencial eléctrico sinusoidales durante la locomoción ficticia espontánea.
2. Durante la locomoción ficticia espontánea observamos la ocurrencia de potenciales del dorso de la médula espinal de tipo sinusoidal, tanto en segmentos cervico-torácicos (C4-T1) como en segmentos lumbo-sacros (L4-S1).
3. Los potenciales sinusoidales del dorso de la médula espinal registrados en el mismo experimento en segmentos cervico-torácicos y en segmentos lumbo-sacros exhiben una amplitud media de $57 \pm 13 \mu\text{V}$ y $63 \pm 20 \mu\text{V}$, respectivamente (media \pm desviación estándar, n= 5 gatos).
4. La máxima amplitud de los potenciales sinusoidales cervico-torácicos se registra en los segmentos C6 distal y C7 proximal (5.7 ± 0.2 cm caudal al óbex (media \pm desviación estándar, n= 5 gatos).
5. La duración del ciclo de las ondas sinusoidales registradas en los segmentos C4-T1 se correlaciona con la duración del ciclo de las ondas sinusoidales registradas en L4- S1 ($r=0.9$).
6. La frecuencia de las ondas sinusoidales registradas en segmentos cervico-torácicos es la misma que las registrada en segmentos lumbosacros.

7. No hay diferencia significativa en la frecuencia y amplitud de las ondas sinusoidales registradas durante la locomoción ficticia post-rascado y la locomoción ficticia espontánea.
8. No hay diferencia significativa entre la duración de los ciclos flexores y extensores de locomoción ficticia post-rascado y la locomoción ficticia espontánea.
9. En la presente tesis se describió y analizó por primera vez la ocurrencia del fenómeno de "locomoción ficticia post-rascado".
10. Se encontró que la latencia entre el final del episodio de rascado ficticio y el inicio del episodio de locomoción post-rascado es de 7 ± 4 s (media \pm desviación estándar, $n= 5$ gatos).
11. Se encontró que el porcentaje de episodios de rascado ficticio que son seguidos de un episodio de locomoción post-rascado es de 73.8 ± 5.9 %
12. Existe diferencia significativa entre la duración media de los ciclos de rascado ficticio con respecto a la duración de los ciclos de locomoción ficticia post-rascado.
13. Existe una diferencia significativa entre la frecuencia instantánea de los ciclos de rascado ficticio con respecto a los ciclos de locomoción ficticia post-rascado.

14. La amplitud de las descargas de nervios flexores y extensores durante la locomoción ficticia post-rascado fue de $21.8 \pm 5.3 \mu\text{V}$ y de $15.5 \pm 3.4 \mu\text{V}$, respectivamente.
15. El ciclo de trabajo flexor y extensor de la locomoción ficticia post-rascado es de $0.58 \pm 0.04 \%$ y $0.50 \pm 0.1 \%$ respectivamente.
16. Existe diferencia significativa entre las frecuencias de las ondas sinusoidales registradas durante el rascado ficticio ($3.5 \pm 0.2 \text{ Hz}$) y la locomoción ficticia post-rascado ($0.9 \pm 0.1 \text{ Hz}$); es decir, el rascado ficticio y la locomoción ficticia post-rascado no ocurren simultáneamente.
17. Los potenciales eléctricos sinusoidales registrados durante la locomoción ficticia post-rascado se distribuyen a lo largo de los segmentos espinales L4-S1.
18. La mayor amplitud de los potenciales eléctricos sinusoidales registrados durante la locomoción ficticia post-rascado se exhibe en el segmento L6.
19. Se registraron interneuronas rítmicamente activas tanto durante el rascado ficticio como durante la locomoción ficticia post-rascado. Dichas interneuronas disparan en la misma fase, flexora, extensora o intermedia en ambas tareas motoras.

EXPERIMENTOS CONDUCTUALES

20. Se encontró diferencia significativa entre las latencias al inicio del episodio de locomoción post-rascado respecto al control.
21. No existe una preferencia de las trayectorias recorridas por los sujetos hacia cierta región del campo abierto en la locomoción post-rascado con respecto a la locomoción control.
22. Existe diferencia significativa en el tiempo de recorrido de la locomoción post-rascado respecto a la control, no así en la distancia ni en la velocidad
23. No hay diferencia significativa entre machos y hembras en la distancia, duración y velocidad de la locomoción post-rascado.

MODELO COMPUTACIONAL

24. Se estableció un modelo computacional que reproduce los resultados experimentales de la locomoción ficticia post-rascado.

XII. CONCLUSIONES

* Las ondas de potencial eléctrico espinal que se registran durante la locomoción ficticia espontánea se registran en los segmentos espinales C4 a T1, lo cual sugiere que el Generador Central de Patrones relacionado a las extremidades anteriores se encuentra distribuido longitudinalmente a lo largo de dichos segmentos.

* El presente trabajo de tesis constituye la primera descripción del fenómeno de locomoción post-rascado. En este contexto, sugerimos que su estudio, junto con el registro unitario de neuronas, puede ser una herramienta para dilucidar los mecanismos neuronales que subyacen las transiciones de una tarea motora rítmica a otra.

XIII.BIBLIOGRAFÍA

AuYong N, Ollivier-Lanvin K, Lemay MA (2011). Preferred locomotor phase of activity of lumbar interneurons during air-stepping in subchronic spinal cats. *Journal of Neurophysiology*, 105:1011-1022.

AuYong N, Ollivier-Lanvin K, Lemay MA (2011). Population spatiotemporal dynamics of spinal intermediate zone interneurons during air-stepping in adult spinal cats. *Journal of Neurophysiology* 106:1943-1953.

Abbott LF, Marder E, Hooper, S L (1991). Oscillating networks: control of burst duration by electrically coupled neurons. *Neural Computation*, 3: 487-497.

Aggelopoulos, NC, Bawa, P, Edgley, S (1996). Activation of midlumbar neurones by afferents from anterior hindlimb muscles in the cat. *Journal of Physiology* 497:795—802

Archavsky YI, Berkinblit MB, Gelfand IM, Orlovsky GN, Fockson OI (1972d). Activity of the neurons of the dorsal spino-cerebellar tract during locomotion. *Biophysics*. 17:506-14.

Archavsky YI, Berkinblit MB, Gelfand IM, Orlovsky GN, Fockson OI (1972e). Activity of the neurons of the ventral spino-cerebellar tract during locomotion. *Biophysics*. 17:926-35.

Brash HM, McQueen DS, Christie D, Bell JK, Bond SM, Rees JL (2005). A repetitive movement detector used for automatic monitoring and quantification of scratching in mice. *Journal of Neuroscience Methods*. 142:107-114.

Ballion B, Morin D, Viala D (2001). Forelimb locomotor generators and quadrupedal locomotion in the neonatal rat. *European Journal of Neuroscience*. 14:1727-38.

Berkinblit MB, Deliagina TG, Feldman AG, Gelfan IM, Orlovsky GN (1978). Generation of scratching. I. Activity of spinal interneurons during scratching. *Journal of Neurophysiology*, 41: 1040-1057.

Berkinblit MB, Deliagina TG, Orlovskii GN, Feldman AG (1977). Activity of propriospinal neurons in cats during the scratch reflex. *Neirofiziologija*. 5:504-11.

Berkinblit MB, Deliagina TG, Orlovsky GN, Feldman AG (1978b). Generation of scratching. II. Non-regular regimes of generation. *Journal of Neurophysiology*, 41: 1058-69.

Berkowitz A, Stein PS (1994). Activity of descending propriospinal axons in the turtle hindlimb enlargement during two forms of fictive scratching: phase analyses. *Journal of Neuroscience*. 14: 5105–5119.

Berkowitz A (2001a). Broadly tuned spinal neurons for each form of fictive scratching in spinal turtles. *Journal of Neurophysiology*, 86: 1017–1025.

Berkowitz A (2001b). Rhythmicity of spinal neurons activated during each form of fictive scratching in spinal turtles. *Journal of Neurophysiology*, 86: 1026–1036,

Berkowitz A (2002). Both shared and specialized spinal circuitry for scratching and swimming in turtles. *Journal of Computational Physiology A Sense Neural Behavior Physiology*, 188: 225–234.

Berkowitz A (2008). Physiology and morphology of shared and specialized spinal interneurons for locomotion and scratching. *Journal of Neurophysiology*. 99:2887-901.

Berkowitz A, Hao Z, (2011). Partly shared spinal cord networks for locomotion and scratching. *Integrative and Comparative Biology*. 51:890-902.

Bernhard CS and Taverner D (1951).The action of d-tubocurine on the monosynaptic extensor reflex. *British Journal of Pharmacology*, 6: 540.

Bernhard CS, Taverner D, Widen L (1951). Differences in the action of tubocurarine and strychnine on the spinal reflex excitability of the cat. *British Journal of Pharmacology*, 6: 551.

Berridge KC (1989). Progressive degradation of serial grooming chains by descending decerebration. *Behavioural Brain Research*, 33:241–253.

Blaesing B, Cruse H (2004). Stick insect locomotion in a complex environment: climbing over large gaps. *Journal of Experimental Biology*, 207:1273-86.

Bradley NS, Smith JL (1988). Neuromuscular patterns of stereotypic hindlimb behaviors in the first two postnatal months. III. Scratching and the paw-shake response in kittens. *Developmental Brain Research*, 38: 69-82.

Briggman KL, Kristan WB Jr (2006). Imaging dedicated and multifunctional neural circuits generating distinct behaviors. *Journal of Neuroscience*, 26:10925-33.

Bonnot A, Whelan PJ, Mentis JZ, O'Donovan MJ (2002). Spatiotemporal pattern of motoneuron activation in the rostral Lumbar and the sacral segments during locomotor-like activity in the neonatal mouse spinal cord. *The Journal of Neuroscience*, 22:1- 6.

Brown TG (1911).The intrinsic factors in the act of progression in the mammal. *Proceedings Royal Society London Biology Science*, 84:308 -319.

Brown TG (1914). On the nature of the fundamental activity of the nervous centres; together with an analysis of the conditioning of the rhythmic activity in progression,

and a theory of the evolution of function in the nervous system. *Journal of Physiology*, 48:18-41.

Bucher D, Taylor AL, Marder E (2006). Central pattern generating neurons simultaneously express fast and slow rhythmic activities in the stomatogastric ganglion. *Journal of neurophysiology*, 95: 3617-3632.

Burke RE, Degtyarenko AM, Simon ES (2001). Patterns of locomotor drive to motoneurons and last-order interneurons: clues to the structure of the CPG. *Journal of Neurophysiology*, 86: 447–462.

Cavallari P, EdgleyS A, Jankowska E (1987). Postsynaptic actions of midlumbar interneurons on motoneurons of hindlimb muscles in the cat. *Journal of Physiology*, 389: 675—690.

Cazalets JR, Borde M, Clarac F (1995). Localization and organization of the central pattern generator for hindlimb locomotion in newborn rat. *Journal of Neuroscience*, 15: 4943–4951.

Carlson Kuhta P and Smith JL (1990). Scratch Responses in Normal Cats: Hindlimb Kinematics and Muscle Synergies *Journal of Neurophysiology*, 64: 1653-67.

Chen S, Lee AY, Bowens NM, Huber R, Kravitz EA (2002). Fighting fruit flies: a model system for the study of aggression. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 99:5664-8.

Chen Y1, Wang Y, Chen L, Sun C, English AW, Wolpaw JR, Chen XY (2010). H-reflex up-conditioning encourages recovery of EMG activity and H-reflexes after sciatic nerve transection and repair in rats. *The Journal of Neuroscience*, 30:16128-36.

Christie KJ, Whelan PJ (2005). Monoaminergic establishment of rostrocaudal gradients of rhythmicity in the neonatal mouse spinal cord. *Journal of Neurophysiology*, 94:1554–64.

Cohen, AH, Wallen P (1980). The Neuronal Correlate of Locomotion in Fish "Fictive Swimming" Induced in an in Vitro Preparation of the Lamprey Spinal Cord. *Experimental Brain Research*, 41:-18.

Cohen, AH (1987). Intersegmental coordinating system of the lamprey central pattern generator for locomotion. *Journal of Comparative Physiology A*, 160: 181-193.

Cohen AH Ermentrout GB, Kiemel T, Kopell N, Sigvardt KA, Williams TL(1992). Modelling of intersegmental coordination in the lamprey central pattern generator for locomotion. *Trends in neurosciences*, 15: 434-438.

Cohen, AH, Kiemel T (1993). Intersegmental coordination: Lessons from modeling systems of coupled non-linear oscillators. *American zoologist*, 33:54-65.

Cohen, AH (2006). Control principles for locomotion-looking toward biology. In *Adaptive Motion of Animals and Machines* (pp. 41-51). Springer Tokyo.

Cohnberg RE (1946). Stimulation of the central nervous system by curare (intocostrin). *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 31:866-77.

Cowley KC, Schmidt BJ (1997). Regional distribution of the locomotor pattern-generating network in the neonatal rat spinal cord. *Journal of Neurophysiology* 77:247–59.

Cyr PR, Dreher GK (2001). Neurotic excoriations. *American Family Physician*, 64:1981-1984.

Dai X, Noga BR, Douglas JR, Jordan LM (2005). Localization of spinal neurons activated during locomotion using the c-fos immunohistochemical Method. *Journal of Neurophysiology*, 93: 3442–3452.

Degtyarenko AM, Simon ES, Norden-Krichmar T, Burke RE (1998). Modulation of oligosynaptic cutaneous and muscle afferent reflex pathways during fictive locomotion and scratching in the cat. *Journal of Neurophysiology*, 79:447-63.

Deliagina TG, Feldman AG, Gelfy IM, Orlovsky GN (1975). On the role of central program and afferent inflow in the control of scratching movements in the cat. *Brain Research*, 100:297-313.

Deliagina TG, Orlovsky GN, Pavlova GA (1983). The capacity for generation of rhythmic oscillations is distributed in the lumbosacral spinal cord of the cat. *Exp Brain Res* 53:81-90.

Destexhe A, Mainen Z & Sejnowski T (1994). An efficient method for computing synaptic conductances based on a kinetic model of receptor binding. *Neural Computation*, 6: 14-18.

Domer FR, Feldberg W (1960).Scratching movements and facilitation of the scratch reflex produced by D-tubocurarine in cats. *The Journal of Physiology*, 153: 18-46.

Drew T, Doucet S (1991) Application of circular statistics to the study of neuronal discharge during locomotion. *Journal of Neuroscience Methods*. 38:171–181.

Duysens J, 1977. Reflex control of locomotion as revealed by stimulation of cutaneous afferents in spontaneously walking preammillary cats. *Journal of Neurophysiology*. 40: 737-751.

Eaton R, Hackett JT (1984) The role of the Mauthner cell in fast starts involving escape in teleost fishes. *Neural mechanisms of startle behavior*. Pp. 213-216. DOI 10.1007/978-1-4899-2286-1_8

Eaton RC, Lee RKK, Foreman MB (2001). The Mauthner cell and other identified neurons of the brainstem escape network of fish. *Progress in Neurobiology*, 63:467–485.

Eccles JC (1946) Synaptic potentials of motoneurons. *Journal of Neurophysiology*, 9:87-120.

Edgley SA, Jankowska, E (1987). An interneuronal relay for group I and II muscle afferents in the midlumbar segments of the cat spinal cord. *Journal of Physiology* 389: 675—690.

Fagerstedt P, Orlovsky GN, Deliagina TG, Grillner S, Ullen F (2001). Lateral turns in the lamprey. II. Activity of reticulospinal neurons during the generation of fictive turns. *Journal of Neurophysiology*, 86: 2257–2265.

Falgaroille M, Cazalets JR (2007). Metachronal coupling between spinal neuronal networks during locomotor activity in the new born rat. *Journal of Physiology*. 568: 87-102.

Feldberg W, Malcolm JL and Sherwood SL (1956). Some effects of tubocurarine on the electrical activity of the cat's brain. *The Journal of Physiology*, 132: 130-145.

Feldberg W, Fleischhauer K (1960). Scratching movements evoked by drugs applied to the upper cervical cord. *The Journal of Physiology*, 151: 502-517.

Feldman AG, Orlovsky GN (1975). Activity of interneurons mediating reciprocal Ia inhibition during locomotion. *Brain Research*, 84:181-194.

Fetcho JR (1991). Spinal network of the Mauthner cell. *Brain, Behavior and Evolution*. 37:298-316.

Field-Fote EC, 2000. Spinal cord control of movement: implications for locomotor rehabilitation following spinal cord injury. *Physical Therapy*, 80:477-84.

Frigon A (2009). Reconfiguration of the Spinal Interneuronal Network During Locomotion in Vertebrates. *Journal of Neurophysiology*, 101: 2201–2203.

Frigon A, Gossard JP (2010). Evidence for specialized rhythm-generating mechanisms in the adult mammalian Spinal Cord. *The Journal of Neuroscience*, 30:7061–7071

Gahtan E, Sankrithi N, Campos JB, O'Malley DM (2002). Evidence for a widespread brain stem escape network in larval zebrafish. *Journal of Neurophysiology*, 87:608-14

Geertsen SS, Stecina K, Meehan CF, Nielsen JB, Hultborn H (2011). Reciprocal Ia inhibition contributes to motoneuronal hyperpolarisation during the inactive phase of locomotion and scratching in the cat. *The Journal of Physiology*, 589:119-34.

Giszter SF, Hart CB (2013). Motor primitives and synergies in the spinal cord and after injury- the current state of play. *Neurons, Circuitry, and Plasticity in the spinal cord and brainstem*. Book series. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1279, pp. 114-126.

Giszter SF, McIntyre J, Bizzi E (1989). Kinematic strategies and sensorimotor transformations in the wiping movements of frogs. *Journal of Neurophysiology*, 62:750-767.

Grillner S, Zangger P (1979). On the central generation of locomotion in the low spinal cat. *Experimental Brain Research*, 34: 241-261.

Grillner S (1981). Control of locomotion in bipeds, tetrapods, and fish. In *Handbook of Physiology: The Nervous System, 2, Motor Control*. V Brooks, 1176-1236. Bethesda, MA: Am. Physiology Society.

Grillner S (2006). Biological pattern generation: The cellular and computational logic of networks in motion. *Neuron*, 52: 751-766.

Grillner S, Georgopoulos AP, Jordan LM (1997). Selection and initiation of motor behavior. In *Neurons, Networks, and Motor Behavior*. P. S. G. Stein, S. Grillner, A. I. Selverston & D. G. Stuart, Eds. MIT Press. Cambridge, MA.

Gordon IT, Dunbar MJ, Vanneste KJ, Whelan PJ (2008). Interaction Between Developing Spinal Locomotor Networks in the Neonatal Mouse. *Journal of Neurophysiology*. 100: 117–128.

Ho, S., O'Donovan M, J., 1993. Regionalization and intersegmental coordination of rhythm generating networks in the spinal cord of the chicken embryo. *The Journal of Neuroscience*. 13, 1354-1371.

Hao ZZ, Spardy LE, Nguyen EBL, Rubin JE, Berkowitz A (2011). Strong interactions between spinal cord networks for locomotion and scratching. *Journal of Neurophysiology*, 106:1766-1781.

Hart CB, Giszter SF (2010). A neural basis for motor primitives in the spinal cord. *The Journal of Neuroscience*. 30: 1322-1336.

Hart CB, Giszter SF (2004) Modular premotor drives and unit bursts as primitives for frog motor behaviors. *The Journal of Neuroscience*. 24: 5269-5282.

Hoffman KL (2011). Animal models of obsessive compulsive disorder: recent findings and future directions. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 6:725-37.

Huntingford FA (2012). The physiology of fish behaviour: a selective review of developments over the past 40 years. *Journal of Fish Biology*, 81: 2103-2126.

Ivanenko, Y. P., Poppele R. E. Lacquantini F., 2006. Spinal cord maps of spatiotemporal alpha-motoneuron activation in humans walking at different speeds. *Journal of Neurophysiology*. 95, 602-618.

Jankowska E., Jukes MGM, Lund S, Lundberg A (1967). The effect of DOPA on the spinal cord 5. Reciprocal organization of pathways transmitting excitatory action to alpha motoneurons of flexors and extensors. *Acta Physiology Scand*, 70: 369-388.

Jankowska E, Jukes MGM, Lund S, Lundberg A (1967). The effect of DOPA on the spinal cord 6. Half-centre organization of interneurons transmitting effects from reflex afferents. *Acta Physiology Scand*. 70, 389-402.

Jankowska E, Edgley SA, Krutki P, Hammar I (2005) Functional differentiation and organization of feline midlumbar commissural interneurons. *The Journal of Physiology (Lond)*, 565:645–658.

Jing J, Weiss KR (2002). Interneuronal basis of the generation of related but distinct motor programs in *Aplysia*: implications for current neuronal models of vertebrate intralimb coordination. *The Journal of Neuroscience*, 22:6228–6238.

King Harold (1940). Curare alkaloids. Part V. Alkaloids of some *Chondrodendron* species and the origin of *radix pareiræ bravæ* *Journal of the Chemical Society*. 737-746

Ivanenko YP, Poppele RE, Lacquantini F (2006). Spinal cord maps of spatiotemporal alpha-motoneuron activation in humans walking at different speeds. *Journal of Neurophysiology*. 95: 602-618.

Jordan LM (1988). Initiation of locomotion in mammals, *Ann NY Academic Sciences*. 16:83-93.

Jordan LM (1991). Brainstem and spinal cord mechanisms for the initiation of locomotion. In: Shimamura, M., Grillner, S., Edgerton, V.R. (Eds.), *Neurobiological Basis of Human Locomotion*. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 3–20.

Kasicki S, Grillner S, Ohta Y, Dubuc R, Brodin L (1989). Phasic modulation of reticulospinal neurons during fictive locomotion and other types of spinal motor activity in lamprey. *Brain Research*, 484: 203–216

Kjaerulff O, Barajon I, Kiehn O (1994). Sulphorhodamine-labelled cells in the neonatal rat spinal cord following chemically induced locomotor activity in vitro. *Journal of Physiology*, 478: 265-73.

Kazuya S, Ariane M, Grillner S (2007). Tectal control of locomotion, steering, and eye movements in lamprey. *Journal of Neurophysiology*, 97:3093-3108.

Kjaerulff O, Kiehn O (1996). Distribution of networks generating and coordinating locomotor activity in the neonatal rat spinal cord in vitro: A lesion study. *The Journal of Neuroscience*, 16: 5777-5794.

Kiehn O, Kjaerulff O (1998). Distribution of central pattern generators for rhythmic motor outputs in the spinal cord of limbed vertebrates. *Ann NY Academy Science*. 860: 110-129.

Kiehn O (2006). Locomotor Circuits in the Mammalian Spinal Cord. *Annual Revisions Neuroscience*. 29:279–306

Kozlov A, Huss M, Lansner A, Hellgren-Kotaleski J, Grillner S (2009). Simple cellular network control principles govern complex patterns of motor behavior. *PNAS* 106: 20027-20032.

Kriellaars DJ, Brownstone RM, Noga BR, Jordan LM (1994). Mechanical entrainment of fictive locomotion in the decerebrate cat. *Journal of Neurophysiology*, 71, 2074–2086.

LaFreniere-Roula M, McCrea D, 2005. Deletions of rhythmic motoneuron activity during fictive locomotion and scratch provide clues to the organization of the mammalian central pattern generator. *Journal of Neurophysiology*, 94: 1120-1132.

Lang R, Didden R, Machalicek W, Rispoli M, Sigafoos J, Lancioni G, Mulloy A, Regeher A, Pierce N, Kang S (2010). Behavioral treatment of chronic skin-picking in individuals with developmental disabilities: a systematic review. *Research in Developmental Disabilities*, 31:304-315.

Li WC, Sautois B, Roberts A, Soffe S (2007). Reconfiguration of a Vertebrate Motor Network: Specific Neuron Recruitment and Context-Dependent Synaptic Plasticity. *The Journal of Neuroscience*, 27:12267–12276

Liao JC, Fetcho JR, 2008. Shared versus specialized glycinergic spinal interneurons in axial motor circuits of larval zebrafish. *The Journal of Neuroscience*, 28: 12982–12992.

Maia TV, Cooney RE, Peterson BS (2008). The neural basis of obsessive-compulsive disorder in children and adults. *Development and Psychopathology*, 20:1251-1283.

Marder E, Eisen JS (1984). Electrically coupled pacemaker neurons respond differently to same physiological inputs and neurotransmitters. *Journal of neurophysiology*, 51:1362-1374.

Marder E, Weimann (1992). Modulatory control of multiple task processing in the stomatogastric nervous system. In: Neurobiology of motor programme selection: new approaches to mechanism of behavioral choice, pp 3-19. Oxford Pergamon.

Marder E, Manor Y, Nadim F, Bartos M, Nusbaum MP (1998). Frequency control of a slow oscillatory network by a fast rhythmic input: pyloric to gastric mill interactions in the crab stomatogastric nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 860:226-38.

Marder E, Bucher D, Schulz DJ, Taylor AL (2005). Invertebrate central pattern generation moves along. *Current Biology*, 15: R685–699.

Manjarrez E, Hdz-Paxtián Z, Kohn A (2005). Spinal for the synchronous fluctuations of bilateral monosynaptic reflexes in cats. *Journal of Neurophysiology*. 94: 3199-3210.

Meyrand P, Simmers J, Moulins M (1991). Construction of a pattern generating circuit with neurons of different networks. *Nature*, 351:60–63.

McCrea DA, Rybak IA (2008). Organization of mammalian locomotor rhythm and pattern generation. *Brain Research Revisions*, 57:134-146.

McLean DL, Fan J, Higashijima S, Hale ME, Fetcho JR (2007). A topographic map of recruitment in spinal cord. *Nature*, 446: 71–75.

McLean DL, Masino MA, Koh IY, Lindquist WB, Fetcho JR (2008). Continuous shifts in the active set of spinal interneurons during changes in locomotor speed. *Nature Neuroscience*, 11: 1419–1429.

Mori S (1987). Integration of posture and locomotion in the acute decerebrate cats and in the awake freely moving cats. *Progress in Neurobiology*, 28: 161-195.

Mori S, Sakamoto T, Ohta Y, Takakusaki K, Matsuyama K (1989). Site-specific postural and locomotor changes evoked in awake, freely moving intact cats by stimulating the brainstem. *Brain Research*, 505: 66-74.

Mori S, Matsui T, Kuse B, Asanome M, Nakajima K, Matsuyama K (1999). Stimulation of a restricted region in the midline cerebellar white matter evokes coordinated quadrupedal locomotion in the decerebrate cat. *Journal of Neurophysiology*, 82:290-300.

Mortin LI, Keifer J, Stein PSG (1985). Three forms of the scratch reflex in the spinal turtle: movement analyses. *Journal of Neurophysiology*. 53:1501–1516.

Mortin LI, Stein PSG (1989). Spinal Cord Segments Containing Key Elements of the Central Pattern Generators for Three Forms of Scratch Reflex in the Turtle. *The Journal of Neuroscience*. 9:2285-2298.

Noga BR, Fortier PA, Kriellaars DJ, Dai X, Detillieux GR, Jordan LM (1995). Field Potential mapping of neurons in the lumbar spinal cord activated following stimulation of the mesencephalic locomotor region . *The Journal of Neuroscience*. 15:2203-2217.

O'Donovan M J, Yee Ho W (1995). Calcium imaging of rhythmic network activity in the developing spinal cord of the chick embryo. *Journal of Neuroscience*. 14: 6354–6369.

Orlovsky GN, Feldman AG (1972). Classification of lumbosacral neurons by their discharge pattern during evoked locomotion. *Neurophysiology (Kiev)* 4:410–417.

Orlovsky GN, Deliagina TG, Grillner S (1999). *Neuronal control of locomotion from mollusk to man*. Oxford University Press.

Popescu IR, Frost WN (2002) Highly dissimilar behaviors mediated by a multifunctional network in the marine mollusk *Tritonia diomedea*. *The Journal of Neuroscience*, 22:1985–1993

Orsal D, Cabelguen JM, Perret C (1990). Interlimb coordination during fictive locomotion in the thalamic cat. *Experimental Brain Research*, 82:536–546.

Perreault MC, Enriquez-Denton M, Hultborn H (1999). Proprioceptive control of extensor activity during fictive scratching and weight support compared to fictive locomotion. *The Journal of Neuroscience*. 19:10966–10976

Pérez T, Tapia JA, Mirasso CR, García-Ojalvo J, Quevedo J, Cuellar CA, Manjarrez E (2009). An intersegmental neuronal architecture for spinal wave propagation under deletions. *The journal of Neuroscience*, 29:10254-63.

Perret C, Cabelguen JM, Orsal D (1988). Analysis of the pattern of activity in “knee flexor” motoneurons during locomotion in the cat. In: Gurfinkle, V.S., Ioffe, M.E., Massion, J., Roll, J.P. (Eds.), *Stance and Motion: Facts and Concepts*. Plenum Press, New York, pp. 133–141.

Popescu IR, Frost WN (2002). Highly dissimilar behaviors mediated by a multifunctional network in the marine mollusk *Tritonia diomedea*. *The Journal of Neuroscience* 22:1985–1993

Pratt CA, Jordan LM (1980). Recurrent inhibition of motoneurons in decerebrate cats during controlled treadmill locomotion. *Journal of Neurophysiology*, 44: 489-500.

Ramirez JM, Pearson KG (1988). Generation of motor patterns for walking and flight in motoneurons supplying bifunctional muscles in the locust. *Journal of Neurobiology*, 9:257–282.

Reichert H, Wine JJ, Hagiwara G, 1981. Crayfish escape behavior: Neurobehavioral analysis of phasic extension reveals dual systems for motor control. *Journal of Comparative Physiology*, 142: 281-294.

Ritter DA, Bhatt DH, Fetcho JR (2001). In vivo imaging of zebrafish reveals differences in the spinal networks for escape and swimming movements. *The Journal of Neuroscience*, 21:8956–8965.

Roh J, Cheung VC, Bizzi E (2011). Modules in the brain stem and spinal cord underlying motor behaviors. *Journal of Neurophysiology*, 106:1363-1378.

Rose JD (2002). The neurobehavioural nature of fishes and the question of awareness and pain. *Rev Fish Sci* 10, 1–38. Rossignol S, 1996. Neuronal control of stereotypic limb movements. *Handbook of Physiology*. 12,173-216.

Rossignol S (1996). Neural control of stereotypic limb movements. In: *Handbook of Physiology*, Section 12. Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems, edited by L. B. Rowell and J. T. Sheperd. American Physiological Society 173-216.

Rybak IA, Shetsova NA, Lafreniere-Roulla M, McCrea DA (2006). Modelling spinal circuitry involved in locomotor pattern generation: insights from deletions during fictive locomotion. *Journal of Physiology*, 617-639.

Ryczko D and Dubuc R (2013). The Multifunctional Mesencephalic Locomotor Region. *Current Pharmaceutical Design*, 19:4448-4470. Savin JA, 1998. How should we define itching? *Journal of the American Academy of Dermatology*, 39:268–269.

Sakura M, Watanabe, Aonuma H (2012). Aggressive behavior of the white-eye mutant crickets, *Gryllus bimaculatus*. *Acta Biologica Hungarica*, 63:69-74.

Segner H (2012). Fish nociception and pain. A biological perspective. Federal office for buildings and logistics (FOBL), Bern. ISBN: 978-3-905782-08-0.

Selionov VA, Shik ML (1984). Medullary locomotor strip and column in the cat. *Neuroscience* 13: 1267-1278. Sherrington CS, 1906. Observations of the scratch-reflex in the spinal dog. *Journal of Physiology*, 34:1-50.

Sherrington CS (1909). A mammalian spinal preparation. *Journal of Physiology*, 38: 375 – 383.

Sherrington CS (1910). Flexion-reflex of the limb, crossed extension reflex and reflex stepping and standing. *Journal of Physiology*. 40:28-121.

Shik ML, Orlovsky GN (1976). Neurophysiology of locomotor automatism. *Physiological Reviews* 56:465-501.

Shik ML, Severin FV, Orlovsky GN (1969). Control of walking and running by means of electrical stimulation of the mesencephalon. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 26:549.

Shik ML (1983) Action of the brainstem locomotor region on spinal stepping generators via propriospinal pathways. In: *Spinal Cord Reconstruction*, edited by C. C. Kao, R. P. Bunge, and P. J. Reier. New York: Raven Press, 1:421 -434.

Sokal R, Rohlf J (1969). *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research*. San Francisco, CA. Ed. Freeman.

Stecina K, Quevedo J, McCrea DA (2005). Parallel reflex pathways from flexor muscle afferents evoking resetting and flexion enhancement during fictive locomotion and scratch in the cat. *The Journal of Physiology*, 569: 275-90.

Stein PS (1983). The vertebrate scratch reflex. In *neural origin of rhythmic movements*. Society for experimental Biology Symposium. 37 (Eds. A Roberts and BL Roberts), pp. 383-403. Cambridge University Press, Cambridge.

Stein PSG, 2005. Neuronal control of turtle hindlimb motor rhythms. *Journal of Computational Physiology*, 191: 213-229.

Sturlevant AH (1915). Experiments on sex recognition and the problem of sexual selection in *Drosophila*. *Journal of Animal Behaviour*, 5: 351-366.

Tapia JA, Trejo A, Linares P, Alva JM, Kristeva R, Manjarrez E (2013). Reticular activating system of a central pattern generator: premovement electrical potentials. *Physiological Reports*. 1 (5): 1-11, e00129.

Thompson AK1, Pomerantz FR, Wolpaw JR (2013). Operant conditioning of a spinal reflex can improve locomotion after spinal cord injury in humans. *The Journal of Neuroscience*, 33:2365-75.

Trejo A., 2010. Ondas de potencial eléctrico en la médula espinal durante la locomoción ficticia espontánea en el gato descerebrado. Tesis de Maestría. Instituto de Fisiología, BUAP.

Trejo A, Tapia JA, Flores A, Moyaho A, Quevedo J, Manjarrez E (2009). Bilateral propagation of sinusoidal electrical waves along the spinal cord during fictive locomotion in decerebrate cats. *S.F.N. abstr.*, 269.15.

Tresch MC, Kiehn O (1999). Coding of locomotor phase in populations of neurons in rostral and caudal segments of the neonatal rat lumbar spinal cord. *Journal of Neurophysiology*, 82:3563-3574.

Vázquez P (2009). Fluctuaciones rítmicas lentas en la amplitud de las ondas eléctricas espinales durante el rascado ficticio. Tesis de Licenciatura. Instituto de Fisiología, BUAP.

Viala D, Buisseret-Delmas C, Portal JJ (1988). An attempt to localize the lumbar locomotor generator in the rabbit using 2-deoxy-(14C) glucose autoradiography. *Neuroscience Letters*. 86:139–143.

Weimann JM, Marder E (1994). Switching neurons are integral members of multiple oscillatory networks. *Current Biology*, 4: 896–902.

Weimann JM, Meyrand P, Marder E (1991). Neurons that form multiple pattern generators: identification and multiple activity patterns of gastric/ pyloric neurons in the crab stomatogastric system. *Journal of Neurophysiology*, 65:111–122.

Woodworth RS, Sherrington CS (1904). A pseudoaffective reflex and its spinal path. *Journal of Physiology*, 31, 234-243.

Yakovenko S, Mushahwar V, VanderHORST V, Holstege G, Prochazka A (2002). *Journal of Neurophysiology*, 87:1542-1553.

Yamaguchi T, 1992. Activity of cervical neurons during forelimb fictive locomotion in decerebrate cats. *Japanese Journal of Physiology*. 42:501-14.

Zaporozhets E, Cowley KC, Schmidt BJ (2006). Propriospinal neurons contribute to bulbospinal transmission of the locomotor command signal in the neonatal rat spinal cord. *Journal of Physiology*, 572: 443–458.

Zor R, Szechtman H, Hermesh H, Fineberg NA, Eilam D (2011). Manifestation of incompleteness in obsessive-compulsive disorder (OCD) as reduced functionality and extended activity beyond task completion. *PLoS ONE* 6: 120:288-98.

Zottoli SJ (1978). Comparative morphology of the Mauthner cell in fish and amphibians. In: *Neurobiology of the Mauthner cell*. Raven Press, New York.