



Universidad Nacional Autónoma de México

Instituto de Neurobiología



**CARACTERIZACIÓN DE LAS NEURONAS DE LA CORTEZA  
SENSORIOMOTORA QUE PROYECTAN AL ASTA DORSAL DE LA MÉDULA  
ESPINAL DE LA RATA**

Tesis que para obtener el grado de Maestro en Ciencias (Neurobiología)  
presenta

QFB. Edna Hurtado Santiago

Director de Tesis

Dr. Gerardo Rojas Piloni

Campus Juriquilla, Querétaro. Octubre 2011



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Universidad Nacional Autónoma de México  
Instituto de Neurobiología

Los miembros del Comité Tutorial certificamos que la tesis elaborada por: Edna Hurtado Santiago, cuyo título es: “Caracterización de las neuronas de la corteza sensoriomotora que proyectan al asta dorsal de la médula espinal de la rata” se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Firma

Presidente

Dra. Sofía Díaz Miranda

\_\_\_\_\_

Secretario

Dr. Gerardo Rojas Piloni

\_\_\_\_\_

Vocal

Dr. Ismael Jiménez Estrada

\_\_\_\_\_

Suplente

Dr. Efraín Santiago Rodríguez

\_\_\_\_\_

Suplente

Dr. Víctor De Lafuente Flores

\_\_\_\_\_

Aprobado por el Comité Académico

---

Dra. Teresa Morales Guzmán  
Coordinadora del Programa

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Proyecto CONACYT 78927, Proyecto PAPIIT IN202610. Número de becario: 234212.

## **AGRADECIMIENTOS ESPECIALES**

Dr. Gerardo Rojas Piloni, por ser el mejor tutor que un alumno pueda desear, por su atención, compromiso, compañerismo y alegría que le caracteriza.

A la Dra. Guadalupe Martínez Lorenzana y el MVZ. Javier Rodríguez Jiménez por su incondicional apoyo técnico.

Al Dr. Miguel Condés Lara por su apoyo, atención y siempre hacerme sentir parte de su equipo de trabajo.

A los miembros de mi comité tutor.

A la M. en C. Leonor Casanova Rico, por su constante y cordial atención para facilitarnos la tarea en asuntos administrativos.

A todos mis maestros.

A mis amigas y compañeras de laboratorio, porque en equipo se trabaja y estudia mejor.

## **DEDICATORIA**

Le dedico esta tesis a mis padres por su amor y apoyo incondicional: Erasto Hurtado Hernández y María de los Angeles Santiago y Camacho.

A mis hermanos Edda y Eliut, por ser mis constantes y gratuitos niños.

A mi hijo porque es la fuerza que me impulsa a superarme cada día.

No lo hubiera logrado sin ustedes.

*"En estos oscuros y silenciosos años, Dios ha estado utilizando mi vida para un propósito que no conozco, pero un día lo entenderé y entonces estaré satisfecha"*

Helen Keller

## RESUMEN

La estimulación de la corteza motora en humanos ha sido utilizada para el tratamiento de dolor crónico y neuropático. Adicionalmente, en modelos animales, se ha mostrado que la estimulación de las cortezas somatosensorial y motora suprime las respuestas nociceptivas conductuales y electrofisiológicas. Sin embargo, los mecanismos involucrados en la modulación corticoespinal de las respuestas nociceptivas han sido poco explorados. Con la finalidad de estudiar con mayor detalle las proyecciones corticoespinales al asta dorsal de la medula espinal (ME) en este trabajo, analizamos la distribución de neuronas de la corteza sensoriomotora (CxSM) que proyectan a distintos segmentos lumbares del asta dorsal; asimismo, determinamos si la población de neuronas de la CxSM que proyectan al asta dorsal es distinta de la que proyecta al asta ventral; y finalmente analizamos la distribución de respuestas electrofisiológicas intraespinales provocadas por estimulación eléctrica de la CxSM. Encontramos que: 1) las neuronas de la CxSM proyectan de manera individual a las láminas superficiales del asta dorsal, en los segmentos L3, L4 y L5; 2) la población de neuronas de la CxSM que proyecta al asta dorsal es diferente de la que proyecta al asta ventral en el segmento L5; 3) los potenciales de campo intraespinales (PCI) provocados por estimulación cortical son mayores cuando se estimulan sitios donde se localizan neuronas que proyectan al asta dorsal y presentan dos componentes: uno de menor latencia ( $22.81 \pm 0.75$  ms y velocidad de conducción  $4.38 \pm 0.02$  ms<sup>-1</sup>, n=6) originado en las láminas superficiales del asta dorsal (0-300 μm) y, otro de mayor latencia ( $45.09 \pm 2.62$  ms y velocidad de conducción  $2.22 \pm 0.13$  ms<sup>-1</sup>; n=6) originado en la sustancia gris intermedia de la ME (400-1000 μm). Nuestros resultados sugieren que subpoblaciones distintas de neuronas de la CxSM que proyectan a la médula espinal proyectan a áreas del asta dorsal, núcleo intermedio y al asta ventral de la médula espinal de la rata.

## SUMMARY

Motor cortex stimulation has been used to treat chronic and neuropathic pain in humans. In animals, stimulation of the somatosensory and motor cortices suppresses nociceptive behavioral and electrophysiological responses, although, the mechanisms involved in the corticospinal modulation of nociceptive responses has been poorly explored. The aims of the present study were to analyze the distribution of neurons into sensorimotor cortex (SMCx) that project to the superficial dorsal horn in different lumbar segments of the spinal cord (SC); also, determine if the population of SMCx neurons projecting to the superficial dorsal horn is different from that projecting to the ventral horn, and analyze the distribution of intraspinal electrophysiological responses caused by stimulation of SMCx. We observed that: 1) SMCx neurons project individually to the superficial laminae of the dorsal horn, in L3, L4 and L5 spinal cord segments; 2) the population of SMCx neurons projecting to the dorsal horn is different from the population projecting to the ventral horn in L5; 3) Local field potentials produced by cortical stimulation are greater when the stimulation was performed on sites where neurons projecting to the dorsal horn are located and have two components: one with shorter latency ( $22.81 \pm 0.75$  ms and conduction velocity  $4.38 \pm 0.02$  ms<sup>-1</sup>, n=6) originated in the superficial laminae of the dorsal horn (0-300  $\mu$ m), and other with longer latency ( $45.09 \pm 2.62$  ms and conduction velocity  $2.22 \pm 0.13$  ms<sup>-1</sup>; n=6) originated in intermediate gray matter (400-1000  $\mu$ m) of SC. Our results suggest that different subpopulation of SMCx neurons projects to dorsal, intermediate and ventral areas of the rat spinal cord.

# ÍNDICE

RESUMEN	i
SUMMARY	ii
I. INTRODUCCIÓN	1
I. 1 Dolor y aferentes nociceptivas	1
I. 2 Modulación de la información nociceptiva	2
I. 3 Vías descendentes que modulan la información nociceptiva	3
II. ANTECEDENTES	6
II. 1 Vía corticoespinal	6
II. 2 Somatotopía de la corteza sensoriomotora en rata	8
II. 3 Modulación de la información sensorial en el asta dorsal mediada por la corteza sensoriomotora	9
II. 4 Efectos de la estimulación cortical en pacientes con dolor crónico	10
III. JUSTIFICACIÓN	11
IV. HIPÓTESIS	12
V. OBJETIVOS	13
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	14
VI. 1 Sujetos	14
VI. 2 Trazado neuronal retrógrado	14
VI. 2. 1 Inyección de los trazadores neuronales retrógrados	14
VI. 2. 2. Perfusión	15
VI. 2. 3 Cortes histológicos del tejido	15

VI. 2. 4 Técnicas de deshidratación y tinción del tejido	16
VI. 2. 4. 1 Deshidratación del tejido	16
VI. 2. 4. 2 Tinción del tejido	16
VI. 1. 6 Cuantificación de neuronas marcadas con FG, TB y DY	16
VI. 1. 7 Análisis histológico	16
VI. 3. Análisis de las respuestas espinales producidas por estimulación cortical	17
VI. 3. 1 Preparación experimental	17
VI. 3. 2 Registro y estimulación	17
VI. 3. 3 Análisis de resultados	18
VI. 3. 4 Análisis estadístico	18
VII. RESULTADOS	19
VII. 1 Distribución de las neuronas en la corteza sensoriomotora que proyectan a los segmentos lumbares L3, L4 y L5 de la médula espinal	19
VII. 1. 1 Análisis de la distribución de neuronas corticoespinales marcadas con trazadores retrógrados en la corteza cerebral	20
VII. 2 Distribución de las neuronas en la corteza sensoriomotora que proyectan a las astas dorsal y ventral del segmento lumbar L5 de la médula espinal	22
VII. 3. Análisis de los potenciales de campo intraespinales producidos por la estimulación cortical	25
VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	30
VIII. 1 Distribución de las proyecciones corticoespinales	30

VIII. 2 Proyecciones corticoespinales a diferentes regiones de la sustancia gris de la médula espinal	30
VIII. 3 Potenciales de campo intraespinales producidos por la estimulación cortical	32
IX. CONCLUSIONES	36
X. REFERENCIAS	37
LISTA DE FIGURAS	47

## I. INTRODUCCIÓN

### I. 1 Dolor y aferentes nociceptivas

Algunos tejidos tienen receptores sensitivos especializados, llamados nociceptores, que pueden ser activados por estímulos nocivos en los tejidos periféricos. Se distinguen tres clases principales: 1) térmicos, activados por temperaturas que para un humano podrían considerarse extremas ( $< 5^{\circ}\text{C}$  y  $> 45^{\circ}\text{C}$ ); 2) mecánicos, activados por presión intensa aplicada a la piel y; 3) polimodales, activados por estímulos mecánicos, térmicos o químicos (Millan, 1999; Bausbaum y Jessell, 2000, Purves et al., 2004).

Además, existe otra clase de nociceptores, los cuales han atraído mucho interés dentro del contexto del dolor prolongado: los llamados receptores silentes, o tal vez, más apropiadamente, receptores durmientes (McMahon y Koltzenburg, 1990a; McMahon y Koltzenburg 1990b; Treede et al., 1992; Schaible and Grubb, 1993; Cervero, 1994; Koltzenburg, 1995). Aunque ningún tipo de nociceptores en realidad muestra una actividad espontánea, el término “silente” se refiere a un subconjunto (tal vez  $10 \pm 20\%$ ) de fibras amielínicas C que se localizan en la piel, articulaciones y vísceras (Cervero, 1994).

Las diferencias morfológicas y funcionales que presentan las fibras aferentes primarias condujeron a Erlanger y Gasser (1937) a clasificarlas por su diámetro, velocidad de conducción y tipo de información que transmiten. Dividieron las fibras nerviosas en tres grupos: A (con cuatro subtipos  $A\alpha$ ,  $A\beta$ ,  $A\delta$  y  $A\gamma$ ), B y C. Cada una de estas clases de fibras codifica información sensorial, pero tienen diferente sensibilidad a los estímulos inocuos y nocivos (Millan, 1999). De este modo, sólo las fibras C y  $A\delta$ , son responsables de la conducción de la información nociceptiva principalmente a las capas superficiales (láminas I y II) y profundas (V y VI) del asta dorsal, así como la lámina X circuncanular (Millan, 2002).

Las fibras  $A\delta$ , tienen un diámetro de  $2\pm 6\ \mu\text{m}$ , son mielinizadas y transmiten los potenciales de acción con velocidades de conducción media ( $12\pm 30\ \text{ms}^{-1}$ ). Son las fibras mielínicas que presentan el menor grosor y todas pertenecen al sistema aferente. Estas fibras principalmente transmiten la información correspondiente al dolor rápido y punzante (Brodal, 1981), aunque también se les ha relacionado con la recepción de

cambios de temperatura (Darian-Smith y Johnson, 1977; Brown, 1981). Mientras que las fibras C son delgadas ( $0.4-1.2 \mu\text{m}$  de diámetro) y amielínicas con velocidades de conducción lentas ( $0.5\pm 2.0\text{ms}^{-1}$ ) (Millan, 1999). Constituyen tanto fibras sensoriales del sistema somático aferente, como fibras autónomas postganglionares. En las raíces dorsales, su número es de 3 ó 4 veces mayor que el de las fibras mielínicas (Pinto et al., 2008; Chen et al., 2010).

El estímulo nocivo captado por los nociceptores es codificado en potenciales de acción, los cuales son conducidos por las fibras aferentes primarias (A $\delta$  y C), que hacen contacto sináptico con neuronas del asta dorsal (láminas I a VII) de la médula espinal y, estas a su vez la conducen a centros cerebrales superiores, como el tronco encefálico y algunas regiones del tálamo (Lima y Almeida 2002; Shore et al., 2007).

## I. 2 Modulación de la información nociceptiva

El dolor es una señal esencial que representa urgencia, alerta y advertencia. A pesar de ello, un amplio rango de experiencias conductuales y emocionales pueden modular su percepción e interpretación. Esto ha permitido sugerir que, a pesar de ser un mensaje fisiológico primitivo y esencial, la “percepción” del dolor puede ser regulada por la acción del sistema nervioso central, de tal manera que existen mecanismos endógenos que modulan la transmisión de información nociceptiva (Melzack y Wall, 1965; Craig, 2003).

En la médula espinal ocurre la primera interacción sináptica capaz de regular la integración y transmisión de la información dolorosa. Así, la actividad de las neuronas que reciben información nociceptiva puede ser modificada por la influencia de otras aferentes no nociceptivas, mediante interneuronas espinales inhibitorias. De esta forma, existe un balance entre las entradas sinápticas nociceptivas y no nociceptivas que crea un sistema de compuerta que es capaz de modificar la percepción del dolor. Las neuronas de amplio rango dinámico han sido elemento esencial en esta teoría, donde las aferentes nociceptivas (fibras C y A $\delta$ ) tienen un efecto excitador “abriendo” la compuerta, mientras las aferentes con respuestas a estímulos de bajo umbral, como las

fibras que median la sensación táctil (A $\beta$ ), las inhiben “cerrando” la compuerta (Melzack y Wall, 1965).

Este sistema de compuerta es modulado tanto por influencias segmentales, como por influencias descendentes, provenientes de centros cerebrales. En general, las vías descendentes que podrían estar modulando la nocicepción mediante una interacción con varios elementos neuronales en el asta dorsal que podrían involucrar: 1) terminaciones de las aferentes primarias; 2) neuronas de proyección, desde centros cerebrales superiores; 3) interneuronas inhibitorias y excitadoras y, 4) terminaciones de otras vías descendentes (Millan, 2002).

### I. 3 Vías descendentes que modulan la información nociceptiva

De la misma manera que la información generada por la activación de aferentes nociceptivas es regulada por la información no nociceptiva a nivel segmental (Melzack y Wall, 1965), existen múltiples estructuras del sistema nervioso central que también modulan de forma eficiente la integración de la información nociceptiva, al ejercer un potente control sobre las neuronas que reciben información nociceptiva en las láminas I, II y V del asta dorsal de la médula espinal (Millan, 2002). Entre ellas se encuentran el hipotálamo, el área gris periacueductal, el núcleo parabraquial, el núcleo del tracto solitario, la formación reticular rostroventromedial (incluyendo el núcleo del rafe), el locus coeruleus y subcoeruleus y diversas áreas de la corteza cerebral (Millan, 2002; Waxman, 2010).

Una de las vías descendentes mejor estudiadas, que modulan la transmisión de información nociceptiva viaja por el funículo dorsolateral. Esta vía inicia en neuronas mesencefálicas del área gris periacueductal, las cuales establecen conexiones excitatorias con la región rostroventral de la médula oblongada, particularmente en los núcleos del rafe magnus y el núcleo reticularis paragigantocelularis (Fields et al., 2006). Los axones de las neuronas de estos núcleos establecen contactos sinápticos con circuitos espinales inhibitorios que se localizan en el asta dorsal de la médula espinal, los cuales también reciben información aferente nociceptiva (Villanueva y Fields, 2004).

Otro sistema descendente importante se origina en los núcleos *locus coeruleus* y *sub coeruleus*, los cuales también inciden sobre neuronas de las láminas superficiales de la médula espinal. Este sistema descendente también puede suprimir la actividad de las neuronas nociceptivas del asta dorsal utilizando como neurotransmisor a la noradrenalina (Fields et al., 1991, Yoshimura y Furue 2006).

Existen otras vías descendentes que también influyen sobre las láminas superficiales del asta dorsal. Una de éstas, se origina en el núcleo paraventricular del hipotálamo (Swanson y Mckellar, 1979; Condés-Lara et al., 2007) y usa como neuromodulador al péptido oxitocina, el cual inhibe la transmisión de información nociceptiva al activar interneuronas inhibitoras de la sustancia gelatinosa (Jo et al., 2002; Rojas-Piloni et al., 2007; Condés-Lara et al., 2009) (figura 1).

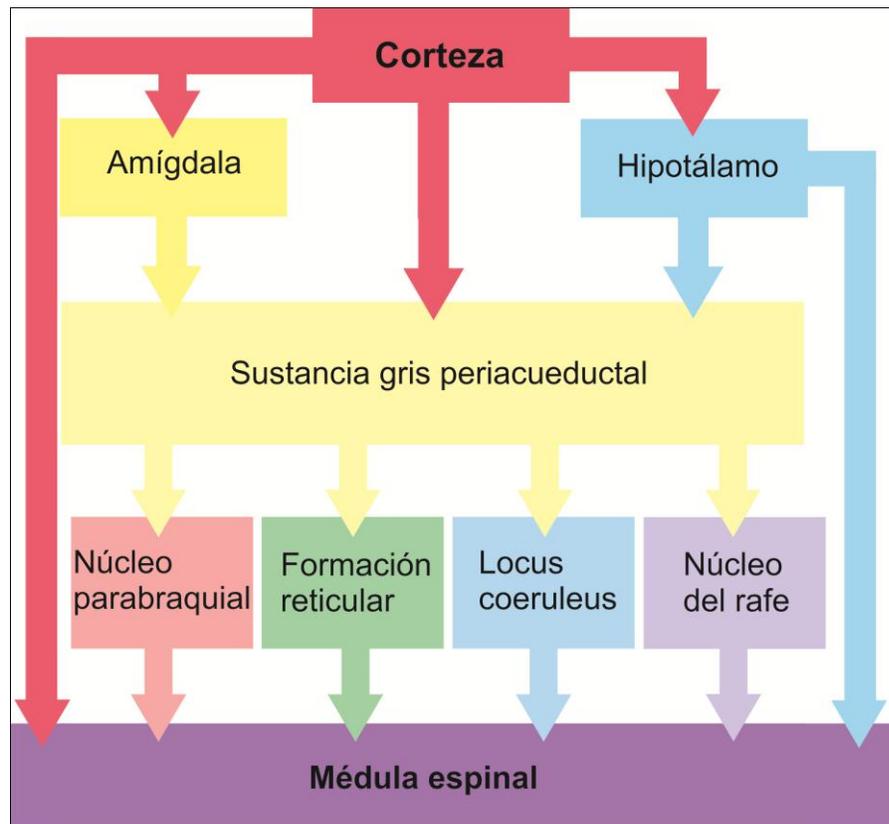


Figura 1. Vías descendentes involucradas en la modulación de la información nociceptiva. Esquema representativo de las estructuras del sistema nervioso central que modulan la integración de la información nociceptiva. (Modificado de Purves et al., 2004).

Adicionalmente, las proyecciones directas corticoespinales originadas en la corteza sensoriomotora también se encuentran regulando la entrada y la transmisión de la información nociceptiva. Estudios experimentales han mostrado que las respuestas nociceptivas conductuales al dolor (Fonoff et al., 2009; Wang et al., 2009), así como las respuestas nociceptivas neuronales en el asta dorsal (Coulter et al., 1974; Yeziarski et al., 1983; Senapati et al., 2005 a y b; Rojas-Piloni et al., 2010), son atenuadas por la estimulación de la corteza sensoriomotora. Sin embargo, los mecanismos que esta vía utiliza para ejercer una modulación en el asta dorsal han sido poco estudiados, por lo tanto constituyen el objeto de estudio del presente proyecto de investigación.

## II. ANTECEDENTES

### II. 1 Vía corticoespinal

El tracto corticoespinal difiere en las distintas especies de mamíferos, no sólo en el número de fibras que lo forman sino también en el lugar de terminación en la médula espinal y la trayectoria de los axones que lo conforman. Como norma general, el tracto corticoespinal cruzado es característico de los mamíferos (Canedo, 2003). Provee la vía más directa sobre la cual la corteza cerebral controla el movimiento a través del contacto directo o indirecto con las motoneuronas de la médula espinal (Bilgen, 2006). En roedores y marsupiales la influencia que ejerce el tracto corticoespinal se da también, sobre las interneuronas del asta dorsal, así como sobre la sustancia gris de la médula espinal (Pierrot-Deseilligny y Burke, 2005; Schieber, 2007; Bruse-Ramer et al., 2009).

El tracto corticoespinal cruzado característico de los mamíferos, presenta un comportamiento dominado por señales visuales, de tal forma que los hemiespacios visual y somatosensorial de un lado del cuerpo se proyectan hasta la corteza cerebral del lado opuesto, cuyas salidas motoras proyectan de forma predominante al tronco cerebral (Bentivoglio et al., 1980; Akintunde y Buxton, 1992a; Akintunde y Buxton, 1992b) y a la médula espinal contralaterales (Ullan y Artieda, 1981; Miller, 1987; Akintunde y Buxton, 1992b). De esta forma, las señales táctiles y visuales y las salidas motoras se procesan e integran en el mismo hemisferio cerebral (Armengol, 1998). En humanos, carnívoros y primates (Canedo, 2003), la mayoría de las fibras corticoespinales cruzan la línea media en la unión bulboespinal y descienden por los cordones dorsolaterales, en donde entran lateralmente a la sustancia gris de la médula espinal. Mientras que en la rata (Akintunde y Buxton, 1992a), el tracto corticoespinal se localiza por debajo de los tractos ascendentes, en particular del fascículo gracilis, (figura 2).

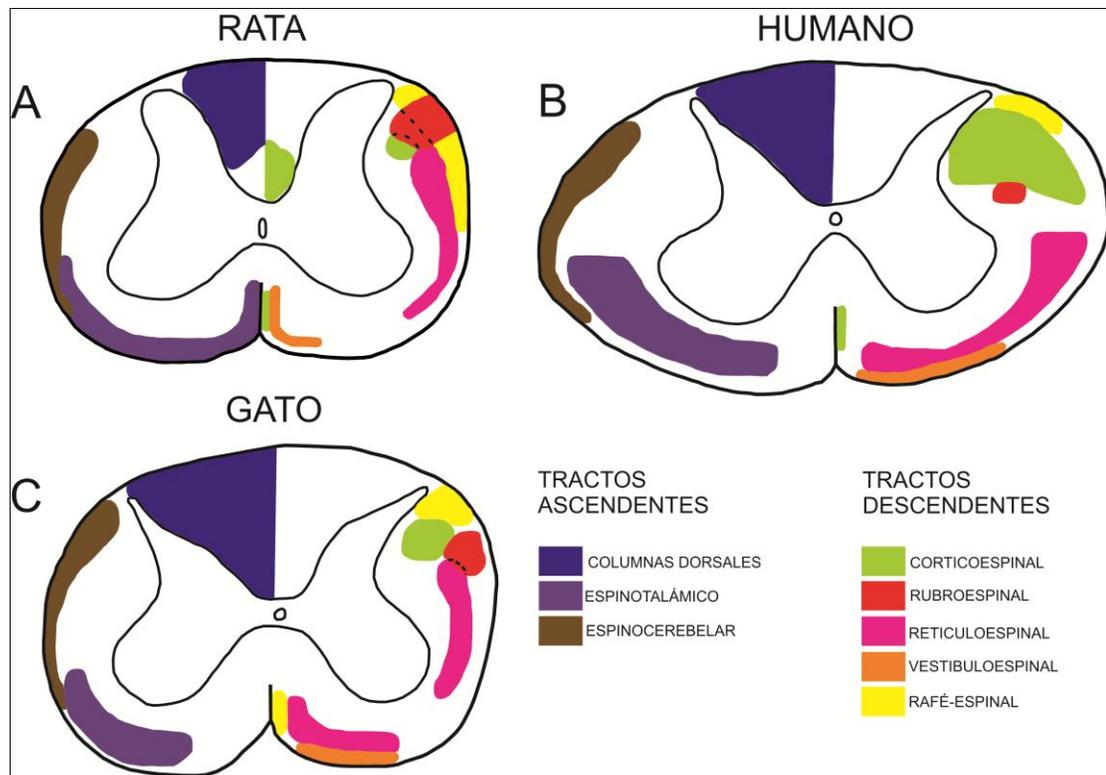


Figura 2. Localización en la médula espinal de las vías descendentes y ascendentes más importantes en rata, humano y gato. Las líneas punteadas indican áreas donde algunos tractos se sobrelapan. Los diagramas muestran la localización de la mayoría de las fibras que componen el tracto. (Modificado de Watson y Harvey, 2009).

En general, las fibras corticoespinales procedentes de las áreas motora y premotora terminan en la zona intermedia del asta ventral de la médula espinal. Por el contrario las que se originan en la corteza somatosensorial terminan en el asta dorsal (Schieber, 1999; Canedo, 2003). La mayoría de los axones corticoespinales cruzados se originan en las zonas de la corteza motora que representan las extremidades y tienen preferencia por los grupos neuronales de las capas intermedias y ventrales de la médula espinal. Los axones corticoespinales que no decusan se originan, sobre todo, en las zonas de representación cortical del cuello, hombro y tronco y, tienen preferencia por los grupos celulares mediales de las capas intermedia y ventral (Amaral, 2000b).

En humanos la corteza motora primaria (MI), se considera una estructura ejecutora bajo la influencia de una gran variedad de señales, incluyendo las periféricas (Canedo, 2003). Está organizada somatotópicamente como la corteza somatosensorial.

Específicamente regiones de la corteza motora tienen influencia sobre la actividad de grupos de motoneuronas que a su vez comandan grupos de músculos. De esta forma, las neuronas de la lámina V de la corteza motora primaria proyectan sus axones directamente a neuronas motoras, o interneuronas, en el asta ventral de la médula espinal por medio del tracto corticoespinal (Wise et al., 1979; Amaral, 2000a).

Se sabe que en la rata, las fibras del tracto corticoespinal a nivel cervical se encuentran principalmente en las láminas IV y se extienden dentro de las láminas V y VI. Así mismo, existe evidencia que muestra que fibras del tracto corticoespinal se extienden dentro del asta ventral y en las láminas VII y VIII de los segmentos cervical y lumbar (Gribnau y Dederen, 1989).

## II. 2 Somatotopía de la corteza sensoriomotora en rata

En la rata, las neuronas del tracto corticoespinal no sólo se originan desde la corteza motora, sino también desde la corteza somatosensorial primaria (Wise et al. 1979; Ullan y Artieda, 1981; Miller, 1987). Ullan y Artieda (1981), mediante el trazado retrógrado con peroxidasa de rábano demostraron una organización diferente de algunas neuronas corticoespinales (o piramidales) de la rata dispuestas en filas, ordenadas somatotópicamente de acuerdo con los segmentos a los que proyectan.

El hecho de que el tracto corticoespinal se origina principalmente en la corteza somatosensorial primaria sugiere funciones de control sensorial (Brown, 1971). Sin embargo, existe un traslape entre la corteza somatosensorial primaria y motora primaria, en la rata reportado por Hall y Lindholm (1974) y otros animales del orden Monotremata, de la infraclase Marsupialia y de la clase Insecta (Lende, 1969). De esta manera, el uso del término corteza sensoriomotora es más adecuado en estos organismos y sugiere que el arreglo de células corticoespinales puede ser el sustrato morfológico para la regulación de las varias funciones de la médula espinal (Ullan y Artieda, 1981). Estudios en la rata mediante el trazado retrógrado, de las neuronas de la corteza motora que proyectan a la médula espinal han mostrado que éstas proyectan de manera individual, es decir, no existe evidencia de que tales neuronas envíen colaterales hacia otros sitios de la médula espinal ni a estructuras subcorticales

(Akintunde y Buxton, 1992b). Además, se sabe que las neuronas corticoespinales en la corteza sensoriomotora tienen un arreglo somatotópico (Wise et al., 1979): sin embargo, no se sabe si existen neuronas de la corteza sensoriomotora que proyecten al asta dorsal y a la ventral de la médula espinal, de manera simultánea en los mismos segmentos espinales.

## II. 3 Modulación de la información sensorial en el asta dorsal mediada por la corteza sensoriomotora

En la rata, las respuestas de las neuronas del asta dorsal de la médula espinal a estímulos nociceptivos, pueden ser inhibidas mediante la estimulación de la corteza sensoriomotora (Rojas-Piloni et al., 2010). Los mecanismos posibles de esta inhibición se desconocen, pero podrían involucrar la activación directa de interneuronas inhibitorias en la médula espinal por la vía del tracto corticoespinal, o por la interrupción de la transmisión de la información nociceptiva desde la médula espinal a través de la activación de los sistemas descendentes moduladores del dolor (Viisanen y Pertovaara, 2010; Pagano et al., 2011). Es por ello que la medición directa de la actividad neuronal en el asta dorsal en rata es importante para entender los posibles mecanismos involucrados en la inducción de antinocicepción por la estimulación de la corteza somatosensorial primaria (Senapati et al., 2005b) y motora (Senapati et al., 2005a).

Lindblom y Ottoson (1957) reportaron que la estimulación eléctrica de la corteza sensoriomotora en el gato reducía las respuestas aferentes en la médula espinal, al parecer por un mecanismo de inhibición presináptica (Meyerson, 2005).

En la década de los 60's Andersen et al. (1964) y Darian-Smith y Yokota (1966) estudiaron los efectos producidos por la estimulación de la corteza cerebral sobre los potenciales de la raíz dorsal, así como sobre la excitabilidad de las terminales centrales musculares y las aferentes cutáneas. Concluyeron que las áreas corticales con mayor eficacia en la producción de la depolarización de las aferentes primarias (PAD, por sus siglas en inglés) son la somatosensorial y motora. Además, Carpenter et al. (1963), así como Rudomín et al. (1986) y Eguibar et al. (1994), encontraron que la estimulación de la corteza motora y del tracto piramidal produce la PAD en aferentes Ib y fibras

cutáneas e inhibe la PAD en las fibras Ia. Estudios previos mostraron que la PAD (deducida de los potenciales de raíz dorsal) es producida luego de la estimulación de las áreas corticales asociativas (Abdelmoumène et al. 1970). Aunque los estudios mencionados documentan los efectos producidos por la estimulación de la corteza cerebral, ofrecen muy poca información acerca de la selectividad de las acciones de la corteza sensoriomotora de acuerdo al tipo y origen de las aferentes musculares y cutáneas que son moduladas, así como los elementos corticales y medulares involucrados.

#### II. 4 Efectos de la estimulación cortical en pacientes con dolor crónico

La estimulación de las áreas motoras de la corteza cerebral, ha sido usada para el tratamiento clínico del dolor crónico y neuropático (Nguyen et al., 1999; Carrol et al., 2000; Canavero et al., 2002). Sin embargo, debido a que tales tratamientos se han aplicado de manera empírica, los mecanismos involucrados en el alivio del dolor con la estimulación eléctrica de la corteza (MCS, por sus siglas en inglés) son poco conocidos (Meyerson, 2005).

Mediante tomografías por emisión de positrones (PET), se ha reportado que la estimulación de la corteza motora aumenta el flujo sanguíneo cerebral en el tálamo ventro lateral ipsilateral, cíngulo, la corteza orbito-frontal y el tronco cerebral (Peyron et al., 1995; García-Larrea et al., 1997; García-Larrea et al., 1999). El grado de analgesia se correlaciona con el aumento en el flujo sanguíneo, lo cual podría explicar en parte estos efectos analgésicos (García-Larrea et al., 1999). Estos resultados sugieren que un sistema procedente de la corteza motora es necesaria para el alivio eficaz del dolor (Brown y Barbaro, 2003).

### III. JUSTIFICACIÓN

Existen diversas vías descendentes que modulan la transmisión de la información nociceptiva a nivel del asta dorsal de la médula espinal. Es así que clínicamente, se ha utilizado la estimulación de diversas áreas cerebrales para el combate del dolor crónico y neuropático, pues esta estrategia permite la activación directa o indirecta de los sistemas de modulación descendentes. Entre los sistemas más estudiados se encuentran las proyecciones serotoninérgicas del núcleo del rafe magno (Millan, 2002), las noradrenérgicas originadas del locus coeruleus (Fields et al., 1991, Yoshimura y Furue, 2006) y la vía oxitocinérgica hipotálamo-espinal (Jo et al., 2002; Rojas-Piloni et al., 2007; Condés-Lara et al., 2009). Sin embargo, los mecanismos de modulación de la información nociceptiva mediados por otros sistemas son poco entendidos en la actualidad. En particular, la participación del sistema descendente corticoespinal es uno de ellos a pesar de que clínicamente, la estimulación de la corteza motora se ha utilizado para combatir el dolor crónico y neuropático (Nguyen et al., 1999; Carrol et al., 2000; Canavero et al., 2002).

En el asta dorsal ocurre la primera interacción sináptica capaz de modular la transmisión de información nociva. El tracto corticoespinal desciende por toda la longitud de la médula espinal, emite fibras a la sustancia gris en todos los niveles, se distribuye en partes de las láminas IV, V, VI y VII, además disminuye de tamaño en forma progresiva en niveles más caudales (Carpenter, 1994). Además, se sabe que una proporción importante también termina en el asta dorsal (Kuypers, 1981; Armand, 1982; Rojas-Piloni et. al, 2010). Sin embargo, se desconoce si los grupos de neuronas corticales que proyectan al asta ventral, evidentemente con funciones motoras, constituyen una población diferente de aquellas neuronas que proyectan al asta dorsal. En este proyecto estudiamos esta posibilidad utilizándose dos estrategias experimentales: el uso de trazadores neuronales retrógrados fluorescentes y el registro electrofisiológico de los potenciales de campo intraespinales provocados por la estimulación cortical.

#### **IV. HIPÓTESIS**

Las neuronas de la corteza sensoriomotora que proyectan al asta dorsal constituyen una población distinta de aquellas que proyectan al asta ventral.

## **V. OBJETIVOS**

- Determinar la distribución de las neuronas de la corteza sensoriomotora que proyectan al asta dorsal de los segmentos lumbares.
- Determinar si las neuronas de la corteza sensoriomotora que proyectan al asta dorsal constituyen una población distinta de las que proyectan al asta ventral.
- Analizar la distribución de respuestas espinales provocadas por la estimulación de la corteza sensoriomotora.

## VI. MATERIAL Y MÉTODOS

### VI. 1 Sujetos

Se utilizaron ratas ( $n= 32$  para el trazado neuronal y  $n= 6$  para los registros de los potenciales de campo intraespinales) macho de la cepa Wistar, con un peso de 280-300 g, los cuales se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas con comida y agua a libre demanda. Todas las manipulaciones experimentales estarán sujetas a las disposiciones del Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología y los lineamientos de la International Association for the Study of Pain.

### VI. 2 Trazado neuronal retrógrado

#### VI. 2. 1 Inyección de los trazadores neuronales retrógrados

Todos los animales fueron anestesiados vía intraperitoneal con una mezcla de Ketamina/Xilacina (70/6 mg/Kg). Luego de ser anestesiados, se montaron en un aparato estereotáxico para realizar una laminectomía a nivel de los segmentos lumbares L4-L6 de la médula espinal, ubicados a partir de los esquemas y fotomicrografías del Atlas de Paxinos y Watson (1998).

Para determinar la distribución de neuronas corticales que proyectan a las láminas superficiales del asta dorsal, se inyectaron los trazadores neuronales retrógrados Fluoro Gold (FG) al 2.5% en agua destilada en el segmento L3, True Blue (TB) en cristales en el segmento L4 y Diamidino Yellow (DY) en cristales en el segmento L5 del asta dorsal. La inyección del trazador FG se realizó con un electrodo de vidrio con un diámetro en la punta de 15  $\mu\text{m}$ , acoplado a una pipeta Hamilton y a su vez acoplada a un Vernier. De esta forma; se inyectó mediante presión 5-10 nl de FG a una profundidad de 200  $\mu\text{m}$  desde la superficie a nivel de L3. Adicionalmente, con un electrodo de punta roma, se insertó un cristal de TB en el asta dorsal a nivel de L4 y un cristal de DY en el asta dorsal a nivel de L5.

En otro grupo de animales se analizó la distribución de las poblaciones de neuronas que proyectan al asta dorsal, las que proyectan al asta ventral y aquellas que proyectan a ambas regiones. Para ello, se utilizó una combinación de trazadores

retrógrados TB y FG, o DY y TB. En donde, el TB (ó DY) se colocó en el asta dorsal a nivel L4 por medio de cristales y el FG (ó TB) se inyectó a nivel del asta ventral en este mismo segmento utilizando la técnica descrita anteriormente.

Una vez inyectados los trazadores, se suturaron los músculos paravertebrales y la piel. Se siguió la condición de cada animal posterior a la cirugía y solo se utilizaron los animales que no muestren signos de parálisis en alguno de los miembros posteriores.

#### VI. 2. 2 Perfusión

Transcurrido un tiempo de sobrevivencia de 13 días, los animales se anestesiaron con una sobredosis de pentobarbital sódico (45 mg/Kg) vía intraperitoneal y se realizó una perfusión vía intracardiaca mediante una solución de lavado con NaCl al 0.9% y con una solución fijadora de paraformaldehído al 4% en buffer de fosfatos 0.1M, pH 7.4 (PB). Una vez terminada la perfusión se extrajeron el cerebro y la médula espinal de cada animal. El tejido se mantuvo en un período de posfijación en paraformaldehído al 4% en PB durante 2 horas. Transcurrido ese tiempo el tejido se colocó en una solución de sacarosa al 30% en PB y se mantuvo en refrigeración hasta que fueron cortados.

#### VI. 2. 3 Cortes histológicos del tejido

El cerebro y la médula espinal de cada animal se colocaron y congelaron durante 5 minutos a -40°C en un micrótopo de congelación (LEICA SM 2000R). Se realizaron cortes transversales de 40 µm de espesor en los segmentos lumbares de la médula espinal y cortes sagitales del cerebro. Se obtuvieron 5 series cada 200 µm, las cuales fueron montadas en portaobjetos doblemente gelatinizados.

#### VI. 2. 4 Técnicas de deshidratación y tinción del tejido

##### VI. 2. 4. 1 Deshidratación del tejido

Los cortes de la serie 1 y 2 fueron deshidratados en un tren que contiene alcohol al 70%, al 80%, al 96% y al 100% y, xilol absoluto. Posteriormente los cortes fueron montados con resina DPX y un cubreobjetos, para su posterior análisis.

#### VI. 2. 4. 2 Tinción del tejido

Los cortes de cerebro sagitales de la serie 3 fueron teñidos con violeta de Cresilo al 0.5% para su estudio histológico, primero mediante un tren de hidratación que consta de xilol absoluto, alcohol al 100%, al 96%, al 80%, al 70% y una solución de violeta de Cresilo al 0.5%, posteriormente se llevó a cabo una deshidratación, como se mencionó en el apartado anterior, y se montaron con resina Entellan para su análisis.

#### VI. 2. 5 Cuantificación de neuronas marcadas con FG, TB y DY.

Se obtuvieron imágenes digitales de los cortes de cerebro a nivel de la corteza sensoriomotora; sobre dichas imágenes se analizó la distribución de las neuronas marcadas en dicha región, a aumentos de 100x y 400x. Esto se realizó con ayuda del programa computacional MDSYS4. Con estos datos se realizaron mapas en los que se representó la localización de las neuronas que proyectan a cada región de la médula espinal.

#### VI. 2. 6 Análisis histológico

Los cortes fueron observados en un microscopio con sistema de fluorescencia con un filtro UV ( $\lambda = 350-460$  nm) (LEICA); para identificar en los sitios de inyección el FG en L3, TB en L4 y DY en L5, y en la corteza sensoriomotora las neuronas marcadas con FG, TB y DY.

Las preparaciones teñidas con violeta de Cresilo al 0.5% se observaron en un microscopio óptico a un aumento de 25x, para establecer la ubicación de las láminas de la médula espinal, así como la corteza sensoriomotora.

### VI. 3. Análisis de las respuestas espinales producidas por estimulación cortical

#### VI. 3. 1 Preparación experimental

Los animales se anestesiaron con uretano (1.4 g/kg de peso corporal i.p.). Las ratas anestesiadas fueron traqueotomizadas y ventiladas artificialmente durante todo el experimento. Asimismo, se monitoreó el CO<sub>2</sub> tidal y el electrocardiograma, la temperatura corporal fue mantenida a 37°C por medio de un colchón térmico. Posteriormente los animales se colocaron en un aparato estereotáxico en donde se

fijaron la cabeza y la columna vertebral en los niveles L3-L5. Se realizó una laminectomía para exponer los segmentos espinales L3-L5. Finalmente, se realizó una craneotomía para exponer la corteza sensoriomotora contralateral al sitio de registro en la médula espinal, AP +2 a -2 partir de Bregma y lateralidad +2 a +4 a partir de la línea media (Paxinos y Watson, 1998).

### VI. 3. 2 Registro y estimulación

Los registros de campo intraespinales se realizaron por medio de electrodos de vidrio llenos con una solución de NaCl 2 M, diámetro de la punta de 1.0-2.5  $\mu\text{m}$  y resistencia de 1.2-1.8 M $\Omega$  y acoplados a un micromanipulador (Narishige MWS-32). Las señales registradas se amplificaron utilizando como frecuencias de corte 0.3 Hz y 30 KHz. Durante el experimento todos los potenciales fueron digitalizados y almacenados para su posterior análisis con el programa Axoscope (V10.0 AxonInstruments).

La estimulación de la corteza se llevó a cabo con una matriz de 15 electrodos bipolares de acero inoxidable, acomodados en un arreglo de 3x5, con una separación de 1 mm entre las puntas, esta matriz fue insertada 1500  $\mu\text{m}$  a partir de la superficie del cerebro. Los estímulos consistieron en trenes de 5 estímulos (duración de los pulsos 100  $\mu\text{s}$ , 100Hz), se registraron los potenciales de campo del promedio de 16 estímulos. La intensidad de estimulación se ajustó en cada experimento para obtener respuestas del 50% de la amplitud máxima (150 - 300  $\mu\text{A}$ ).

En la médula espinal, se realizaron los registros de las respuestas electrofisiológicas de campo registradas a distintas profundidades desde la superficie (0 a 2000  $\mu\text{m}$ ), contra e ipsilateralmente al sitio de estimulación cortical. Se estimularon cuatro áreas de la corteza sensoriomotora en distintos tiempos y las siguientes coordenadas: 1) AP +2, lat +2; 2) AP +2, lat +4; 3) AP -2, lat +2 y; 4) AP -2, lat +4 (Paxinos y Watson, 1998). Se promediaron 16 respuestas provocadas para cada condición experimental.

### VI. 3. 3 Análisis de resultados

Se analizaron las amplitudes de las respuestas de campo provocadas por la estimulación cortical. Los resultados obtenidos en todos los experimentos fueron promediados para analizar las profundidades de amplitud máxima.

### VI. 3. 4 Análisis estadístico

Para comparar las amplitudes de las respuestas entre los PCI contra e ipsilaterales al sitio de estimulación se realizó una prueba Wilcoxon. Se consideraron como significativos los valores de  $p < 0.05$ .

## VII. RESULTADOS

### VII. 1 Distribución de las neuronas en la corteza sensoriomotora que proyectan a los segmentos lumbares L3, L4 y L5 de la médula espinal

Los cortes transversales de la médula espinal mostraron que los sitios de inyección de los 3 trazadores en los segmentos lumbares se observaron de la siguiente manera: DY en L3, FG en L4 y TB en L5 (figura 3C). La inyección de DY en L3 abarcó una longitud de 2.6 mm, la de FG en L4 abarcó 3.2 mm, mientras que la de TB en L5 abarcó una longitud de 2.2 mm.

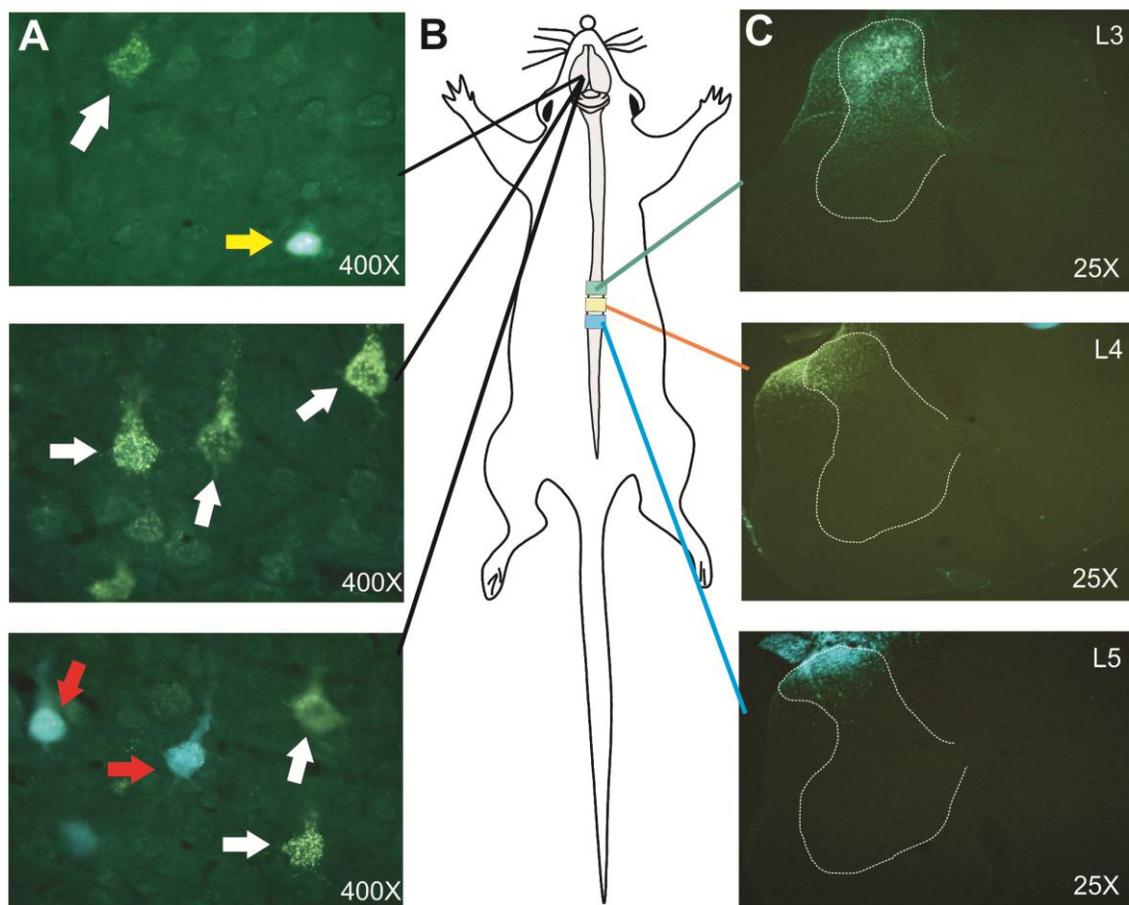


Figura 3. Sitios de inyección en los segmentos lumbares de la médula espinal. El panel A muestra ejemplos de las neuronas marcadas en la corteza contralateral a los sitios de inyección. Las neuronas marcadas con FG se indican con flechas blancas, las marcadas con DY se indican con flechas amarillas y las flechas rojas muestran las marcadas con TB. B, esquema que indica los segmentos espinales en los cuales se inyectaron el DY (verde), FG (amarillo) y TB (azul). C, fotomicrografías de los sitios de inyección con DY, FG y TB.

Es importante recalcar que el FG, a diferencia del DY y TB, fue inyectado en forma de solución, lo que pudo influir para que el trazador se difundiera en una mayor área a diferencia del DY y TB que fueron inyectados en forma de cristal.

#### VII. 1. 1 Análisis de la distribución de neuronas corticoespinales marcadas con trazadores retrógrados en la corteza cerebral

Se analizaron las cortezas ipsilateral y contralateral al sitio de inyección en el asta dorsal. Sólo fueron observadas neuronas marcadas en la corteza contralateral a los sitios de inyección. Ninguna neurona marcada con alguno de los 3 trazadores se observó en la corteza ipsilateral a los sitios de inyección. El análisis de la cuantificación y distribución de la neuronas corticales marcadas con DY, FG y TB en la corteza contralateral (figura 4A) fueron realizadas con el programa MDSYS4, el cual permitió realizar un mapeo de la localización de las neuronas marcadas (figura 4C).

La distribución de las neuronas marcadas en la corteza contralateral mostraron una distribución desde 1.6 a 2.8 mm a partir de la línea media (figura 4A). Se observaron en total 162 neuronas marcadas con FG, correspondientes a las neuronas que proyectan a L4; 3 neuronas marcadas con DY, que envían proyecciones a L3; y 8 neuronas marcadas con TB, las cuales proyectan a L5 (n= 1). No se observaron neuronas en la corteza contralateral doble o triplemente marcadas. Por otro lado, encontramos que las neuronas marcadas con FG fueron las más abundantes. Esto podría deberse a que el FG que se inyectó en el segmento L4, abarcó al segmento L4 casi en su totalidad (3.2 mm), a diferencia de los otros dos trazadores, los cuales se distribuyeron en una menor área en la médula espinal.

La distribución de las neuronas que proyectan a L3, L4 y L5 corresponde solamente a la corteza somatosensorial primaria. Esto se comprobó con los cortes sagitales de cerebro teñidos con violeta de Cresilo (0.5%), los cuales también sirvieron para verificar que las neuronas en la corteza contralateral marcadas con los 3 distintos trazadores se ubicaron en la capa V de la corteza, que corresponden de acuerdo a su localización a células piramidales (figura 4A).

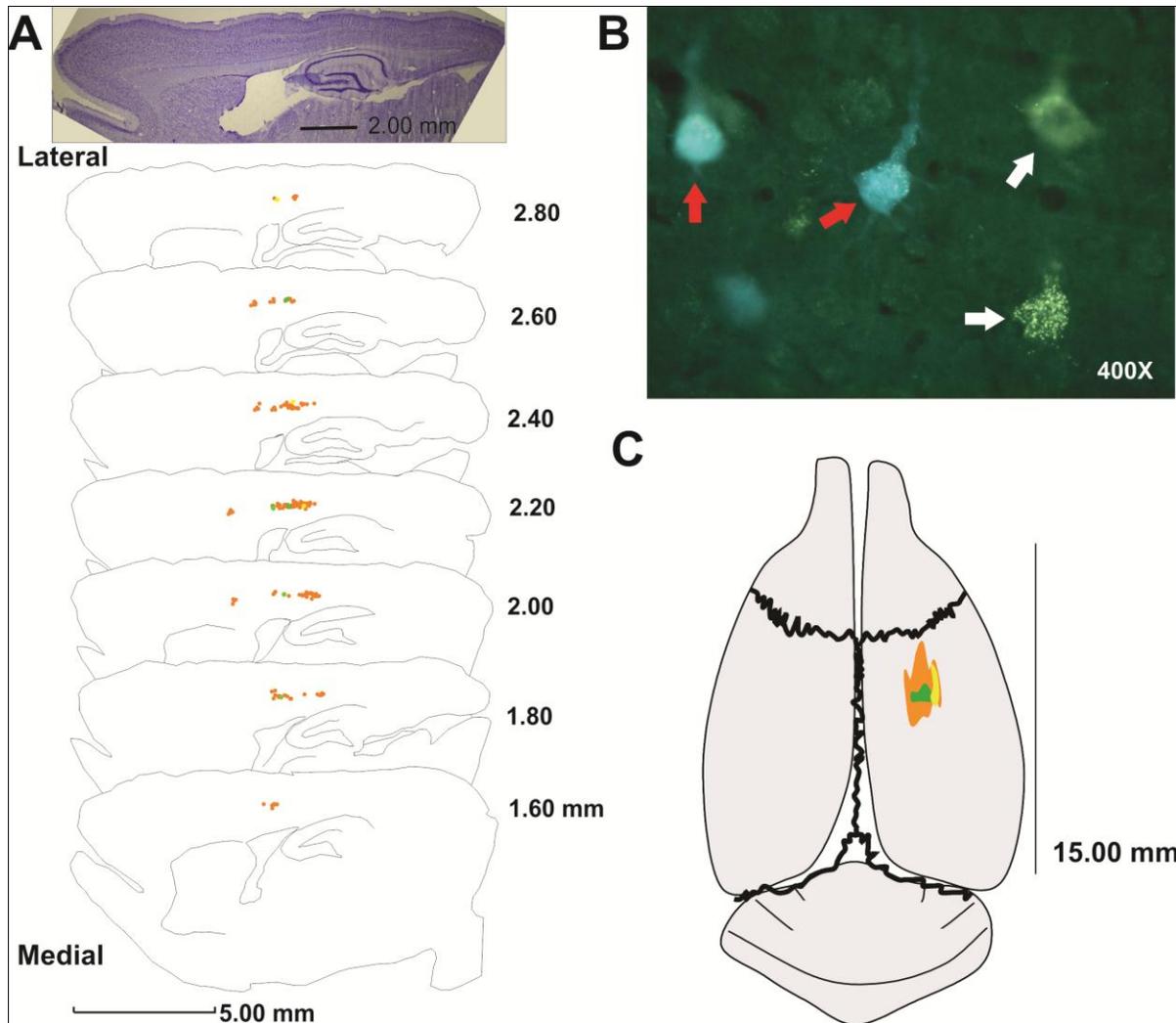


Figura 4. Distribución de las neuronas que proyectan a L3 marcadas con DY (símbolos amarillos), L4 marcadas con FG (símbolos naranjas) y a L5 marcadas con TB (símbolos verdes) en la corteza sensoriomotora contralateral al sitio de inyección. En el panel A se muestra la distribución mediante la digitalización de los cortes sagitales de cerebro correspondientes a la corteza contralateral al sitio de inyección. El panel B muestra una fotomicrografía de un corte sagital de cerebro, que muestra ejemplos de neuronas marcadas con FG (flecha blanca) y marcadas con TB (flecha roja). El panel C muestra el esquema, de un cerebro de rata, con la posición relativa de las fisuras de Bregma, Lambda y la línea media en el que se representa la distribución de las neuronas marcadas con DY (zona amarillo), FG (zona naranja) y TB (zona verde).

Las neuronas marcadas con DY se localizaron medialmente respecto a aquellas marcadas con FG y TB. Asimismo, la inyección de DY se realizó en el segmento más

rostral (L3), lo cual refuerza la idea de que la distribución de las neuronas de la corteza sensoriomotora presenta una somatotopía.

## VII. 2 Distribución de las neuronas en la corteza sensoriomotora que proyectan a las astas dorsal y ventral del segmento lumbar L5 de la médula espinal

A continuación se describe la distribución de las neuronas corticales cuyas inyecciones se llevaron a cabo en al asta dorsal (TB ó DY) y ventral (FG ó TB) a nivel del segmento L5 de la médula espinal.

Se analizaron los sitios de inyección en 2 animales. Para el análisis de los sitios de inyección de los trazadores retrógrados, se realizaron cortes transversales en la médula espinal, en los segmentos lumbares. De esta forma, los sitios de inyección se localizaron en el segmento L5 (TB en el asta dorsal y FG en el asta ventral) (figura 5) y se distribuyeron en una longitud de 3 mm.

Se analizaron las cortezas ipsilateral y contralateral al sitio de inyección; sin embargo, sólo fueron observadas neuronas marcadas en la corteza contralateral a los sitios de inyección (figura 6).

Las neuronas marcadas en la corteza contralateral mostraron una distribución desde 2.04 a 2.64 mm a partir de la línea media (figura 6A). El número de neuronas marcadas con TB (que proyectan al asta dorsal) y FG (que proyectan al asta ventral) para el primer animal fue de 15 y 42, respectivamente, mientras que en el segundo animal se cuantificaron 320 y 442 neuronas, respectivamente.

No se observaron neuronas en la corteza contralateral doblemente marcadas (6B). Por otro lado, encontramos que las neuronas marcadas con FG fueron las más abundantes, lo que sugiere que la población de neuronas corticales que proyecta al asta dorsal constituye una población diferente de las que proyectan al asta ventral.

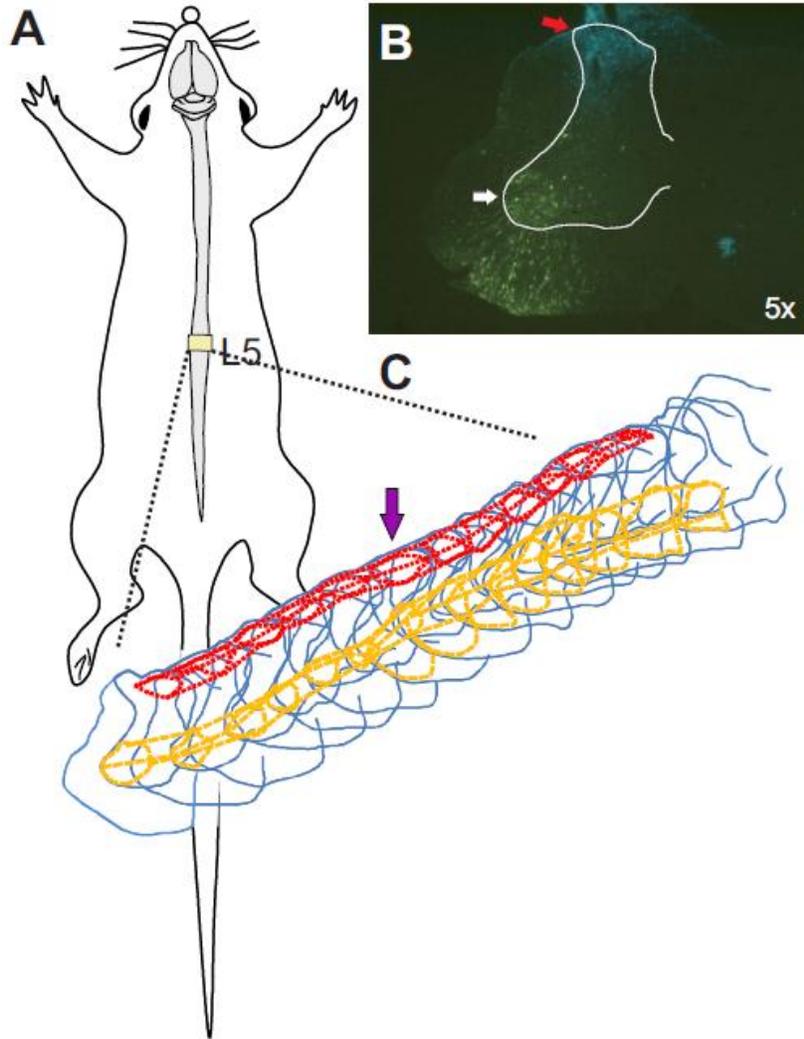


Figura 5. Sitios de inyección en el segmento lumbar L5 de la médula espinal. A, esquema que ilustra el segmento lumbar donde se llevó a cabo la inyección de FG y TB. B, fotomicrografía de los sitios de inyección en los cuales se inyectaron FG (flecha blanca) en el asta ventral y TB (flecha roja) en el asta dorsal. C, reconstrucción de los cortes con los sitios de inyección. La flecha morada indica el corte de los sitios de inyección mostrados en B.

Por otro lado, las neuronas marcadas que observamos en la corteza sensoriomotora, ya sean las que proyectan al asta dorsal (marcados con TB) o aquellas que proyectan al asta ventral (marcadas con FG), según los diagramas del atlas de Paxinos y Watson (1998), se distribuyeron en la parte de la corteza sensoriomotora que tiene las representaciones de la corteza motora primaria y la somatosensorial primaria de las extremidades posteriores (figura 7).

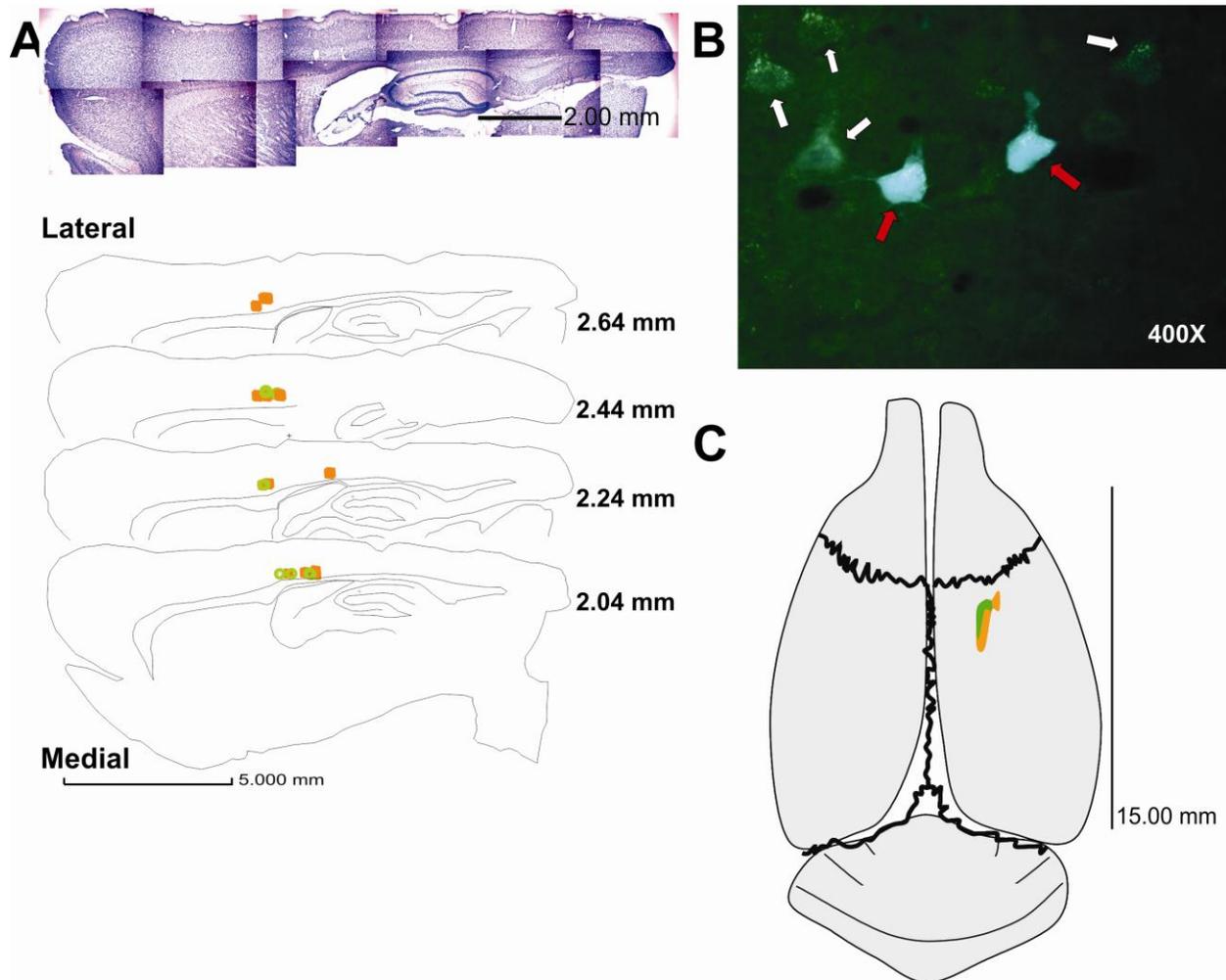


Figura 6. Distribución de las neuronas que proyectan al asta dorsal y ventral a nivel de L5, marcadas con FG (cruces naranjas) y TB (círculos negros) en la corteza sensoriomotora contralateral al sitio de inyección. En el panel A se muestra la distribución mediante la digitalización de los cortes sagitales de cerebro correspondientes a la corteza contralateral al sitio de inyección. El panel B muestra una fotomicrografía de un corte sagital de cerebro, que muestra ejemplos de neuronas marcadas con FG (flecha blanca) y TB (flecha roja). El panel C muestra el esquema, de un cerebro de rata, con la posición relativa de las fisuras de Bregma, Lambda y la línea media en el que se representa la distribución de las neuronas marcadas con FG (zona naranja) y TB (zona verde).

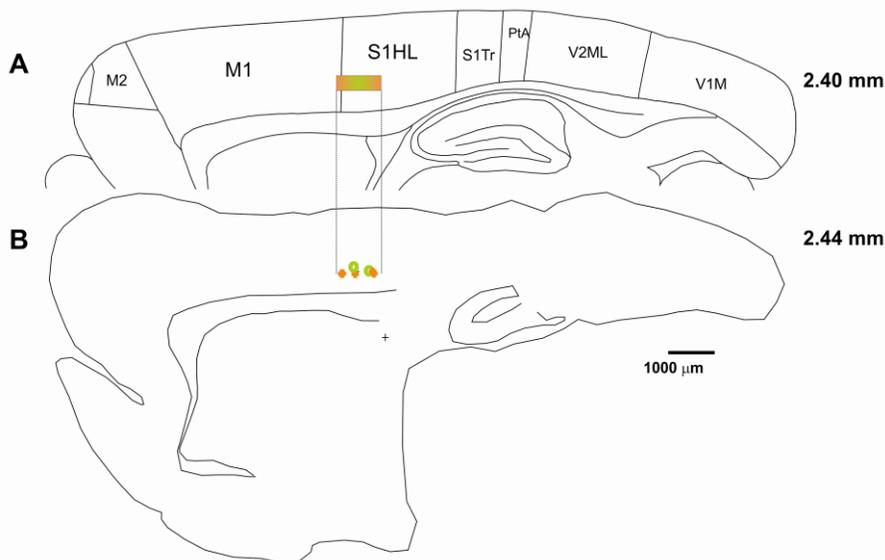


Figura 7. Localización de los sitios donde se localizaron la neuronas marcadas proyectan al asta dorsal (círculos verdes) y al asta ventral (cruces naranjas) en la corteza sensoriomotora. Diagrama A, esquema tomado y modificado de Paxinos y Watson (1998) a 2.40 mm a partir de la línea media, B Digitalización de un corte sagital a 2.44 mm a partir de la línea media. M2: corteza motora secundaria; M1: corteza motora primaria; S1HL: región de las extremidades posteriores de la corteza somatosensorial primaria; S1Tr: región del tronco de la corteza somatosensorial primaria; PtA: corteza parietal de asociación; V2ML: área mediolateral de la corteza visual secundaria; V1M: área monocular de la corteza visual primaria.

### VII. 3. Análisis de los potenciales de campo intraespinales producidos por la estimulación cortical

Con la finalidad de analizar la distribución de los potenciales de campo intraespinales (PCI) producidos por la activación de las neuronas de la corteza sensoriomotora, se analizaron las respuestas provocadas por la estimulación cortical a distintas profundidades en la médula espinal. Para elegir la intensidad media de estimulación se realizó una curva entrada-salida antes de iniciar cada experimento. Los potenciales de campo intraespinales producidos por la estimulación cortical (trenes de 5 pulsos, 100  $\mu$ s, 1 kHz y 150  $\mu$ A) muestran dos componentes. El primer componente tiene una menor latencia ( $22.81 \pm 0.75$  ms y velocidad de conducción  $4.38 \pm 0.02$   $\text{ms}^{-1}$ ; n=6) y se encuentra superficialmente entre 0-300  $\mu$ m, mientras que el segundo componente

presenta una latencia mayor ( $45.09 \pm 2.62$  ms y velocidad de conducción  $2.22 \pm 0.13$   $\text{ms}^{-1}$ ;  $n=6$ ) y se encuentra 400-1000  $\mu\text{m}$  (figura 8).

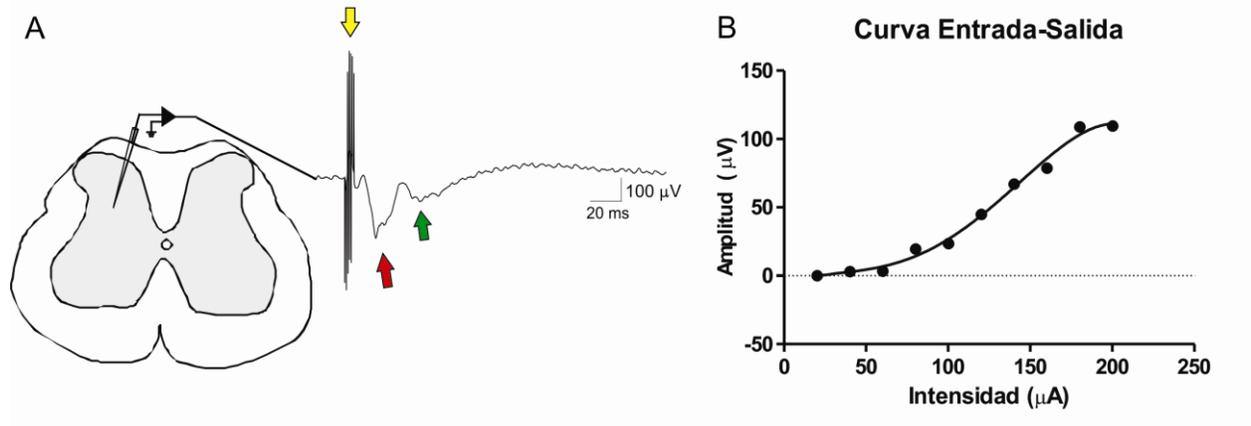


Figura 8. Potencial de campo intraespinal provocado por la estimulación de la corteza sensoriomotora.. A, muestra el PCI contralateral al sitio de estimulación a una profundidad de 400  $\mu\text{m}$ , en el punto más rostral de la matriz de estimulación (AP +2, lateralidad +2). B, curva entrada-salida que indica la relación de la amplitud de la respuesta de los PCI con la intensidad de estimulación. Se muestran, además, el artefacto de estimulación (flecha amarilla), el primer (flecha roja) y segundo componente (flecha verde).

Los PCI ipsilaterales al sitio de estimulación mostraron un comportamiento similar a los PCI contralaterales, sin embargo, las amplitudes de respuesta fueron significativamente menores (figura 9). Adicionalmente, en los registros ipsilaterales al sitio de estimulación cortical solo identificamos la respuesta de corta latencia y no distinguimos la respuesta de latencia mayor.

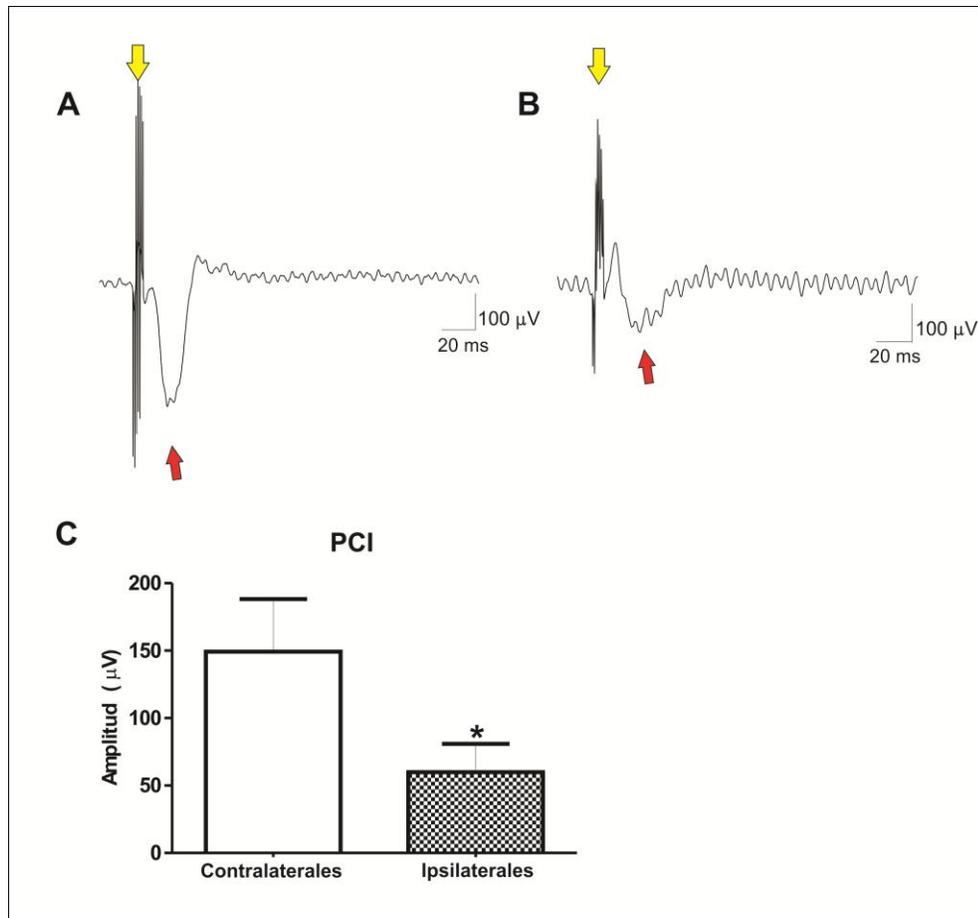


Figura 9. Comparación de los PCI contra e ipsilaterales al sitio de estimulación. Ejemplos de PCI a 100 μm de profundidad, A, contralateral y B, ipsilateral, al sitio de estimulación. En C se observa que la amplitud de respuesta de menor latencia es mayor en los PCI contralaterales al sitio de estimulación (\* $p < 0.05$ , prueba Wilcoxon,  $n = 24$  intentos). Artefacto de estimulación (flecha amarilla), primer componente (flecha roja).

Con la finalidad de analizar las fuentes y sumideros de corriente se midieron las amplitudes de ambos componentes, a diferentes profundidades de la ME (figura 10). De esta manera, las mayores amplitudes en la respuesta de corta latencia se producen a una profundidad de 0-300 μm, que corresponde al asta dorsal de la médula espinal. El componente de mayor latencia mostro tener una amplitud mayor a profundidades entre 500-1000 μm, que corresponden a la sustancia gris intermedia y parte del asta ventral (Paxinos y Watson, 1998) (figura 11). Asimismo, la polaridad del primer componente se

invierte a las 600  $\mu\text{m}$  y la polaridad del segundo componente se invierte a una profundidad de 300  $\mu\text{m}$ .

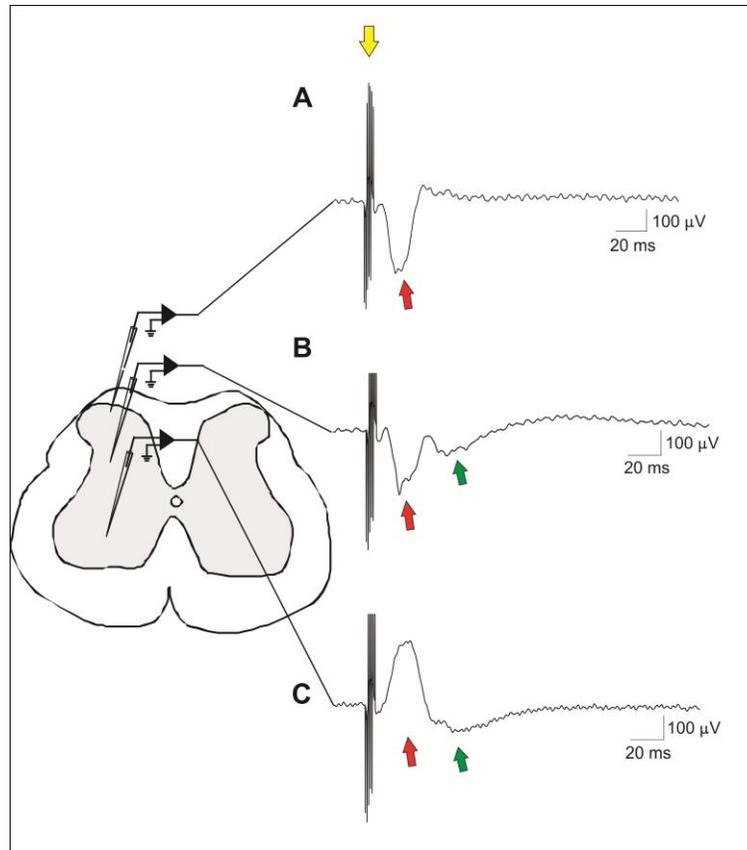


Figura 10. PCI a diferentes profundidades de la médula espinal. PCI a 100  $\mu\text{m}$  (A), 400  $\mu\text{m}$  (B) y 1800  $\mu\text{m}$  (C) de profundidad. Nótese que para los tres registros el primer componente (flecha roja), mientras que en B y C aparece también el segundo componente (flecha verde). Artefacto de estimulación (flecha amarilla).

Por otro lado, se analizaron los PCI producidos por la estimulación de diferentes regiones de la corteza sensoriomotora ( $n=6$ ). El análisis mostró que existe un comportamiento similar cuando se estimulan las distintas regiones. Sin embargo, la amplitud de los PCI provocados por la estimulación de las regiones rostrales de la corteza sensoriomotora (AP +2, lat +4) fue de menor amplitud (figuras 9 y 11).

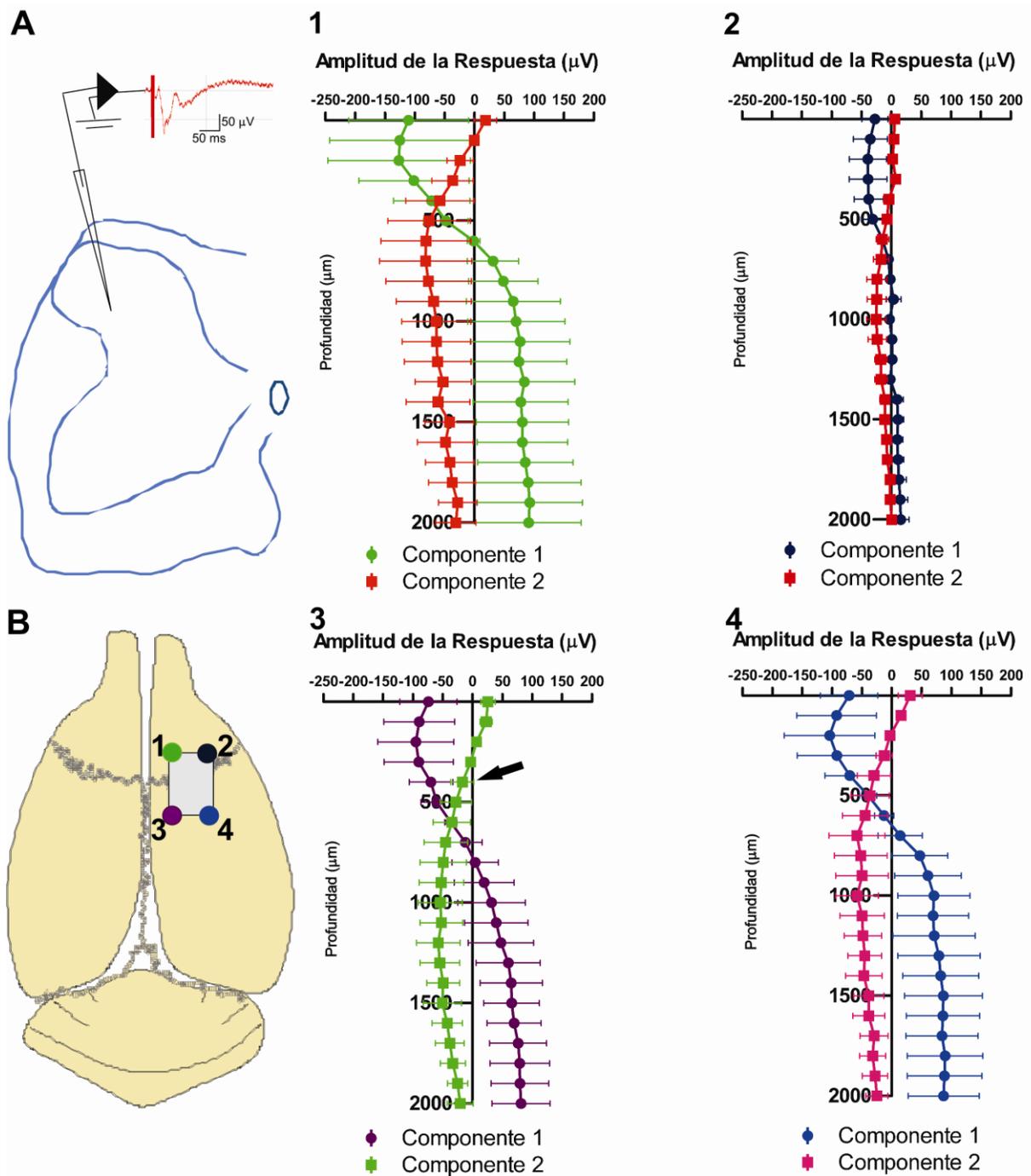


Figura 11. Amplitud de las respuestas de campo provocadas por la estimulación de la corteza sensoriomotora en diferentes puntos y profundidades. A, esquema de la médula espinal y ejemplo de potencial de campo a 400  $\mu\text{m}$  de profundidad, provocado por la estimulación de la corteza sensoriomotora del punto 1 (flecha negra). B, zonas de estimulación en la corteza sensoriomotora. 1-4: puntos de la corteza sensoriomotora que se estimularon. 1: AP+2, lateralidad +2; 2: AP +2, lateralidad +4; 3: AP-2, lateralidad +2; 4: AP -2, lateralidad +4.

## VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### VIII. 1 Distribución de las proyecciones corticoespinales

En este trabajo de tesis, mediante el trazado neuronal retrógrado se demostró que existe una proyección directa de la corteza sensoriomotora hacia las capas superficiales del asta dorsal contralateral de la médula espinal. Estos resultados confirman reportes previos, con diferentes metodologías de trazado neuronal, que describen una proyección de la corteza sensoriomotora hacia el asta dorsal contralateral de la médula espinal (Cheema et al. 1984; Miller, 1987; Casale et al., 1988; Akintinde y Buxton 1992b).

El tracto corticoespinal pertenece al sistema piramidal y aunque las fibras del sistema piramidal son las que emiten un mayor número de ramas colaterales tanto a nivel supraespinal como intraespinal (Canedo, 2003), en este trabajo no se encontraron neuronas doblemente marcadas cuando los trazadores fueron inyectados en tres segmentos distintos del asta dorsal a nivel lumbar. Esto sugiere que no existen o hay muy pocas colaterales que lleguen a las capas superficiales del asta dorsal de distintos segmentos espinales (Akintunde y Buxton, 1992b; Brösamle y Schwab, 1997).

Otro dato interesante es que no se observaron neuronas marcadas en la corteza sensoriomotora ipsilateral al sitio de inyección, probablemente debido a que las inyecciones se realizaron de forma muy puntual, sólo en las capas superficiales del asta dorsal, por lo que la probabilidad de marcaje de neuronas ipsilaterales al sitio de inyección fue muy baja. En este sentido, se ha reportado que aproximadamente sólo del 5-9 % a nivel lumbar de las fibras del tracto corticoespinal en la rata no decusan (Brösamle y Schwab, 1997; Brus-Ramer et al., 2009) y se mantienen ipsilaterales.

### VIII. 2 Proyecciones corticoespinales a diferentes regiones de la sustancia gris de la médula espinal

El tracto corticoespinal es el mayor tracto de fibras descendentes de la corteza cerebral y es conocido por ser una importante vía motora (Joosten y Gribnau, 1988; Bilgen, 2006; Schieber, 2007; Bruse-Ramer et al., 2009).

Es sabido que, en la rata, las neuronas del tracto corticoespinal no sólo se originan desde la corteza motora, sino también desde la corteza somatosensorial primaria (Wise et al. 1979; Ullan y Artieda, 1981; Miller, 1987). Sin embargo, existe un traslape entre la corteza somatosensorial primaria y motora primaria (corteza sensoriomotora) (Hall y Lindholm, 1974), lo que sugiere que la transmisión de la información por el tracto corticoespinal involucra un conjunto de funciones somatosensoriales y motoras, en la que la interacción de éstas no es del todo clara. En este trabajo encontramos que las neuronas de la corteza sensoriomotora que proyectan a las capas superficiales del asta dorsal constituyen una población diferente de las que proyectan al asta ventral. Y además, se encuentran en la parte de la corteza sensoriomotora que representa la corteza motora primaria y la somatosensorial primaria que representa las extremidades posteriores.

La distribución de las neuronas de la corteza sensoriomotora que proyectan al asta dorsal de la médula espinal corresponde con la reportada en la bibliografía (Gribnau y Dederen, 1989; Akintunde y Buxton, 1992 a y b). Asimismo, existe evidencia de que las proyecciones directas del tracto corticoespinal no emiten colaterales (Ullan y Artieda, 1981; Gemma et al., 1987; Brösamle y Schwab, 1997), por lo que cada neurona tiene sólo una proyección que desciende hacia todos los niveles de la médula espinal (Brösamle y Schwab, 1997).

Las neuronas de la lámina V de la corteza motora primaria proyectan sus axones directamente a neuronas motoras, o interneuronas, en la lámina VII y el asta ventral de la médula espinal por medio del tracto corticoespinal (Wise et al., 1979; Amaral, 2000a; Shieber, 2007). Una importante cantidad de fibras que sólo llegan a las capas superficiales del asta dorsal (Cheema et al., 1984; Miller, 1987, Casale et al., 1988), que podrían estar regulando la información sensorial ascendente.

El propósito fundamental del trazado neuronal es dilucidar conexiones anatómicas dentro del sistema nervioso. Los trazadores son típicamente usados para identificar las células de origen que inervan ciertas estructuras cerebrales, así como las terminaciones de las mismas. El trazado neuronal permite no solo la definición de poblaciones neuronales de acuerdo con sus conexiones anatómicas, incluso permite

hacer un amplio rango de aproximaciones adicionales, como las estrategias con múltiple trazado, en donde con el uso de diferentes trazadores fluorescentes se pueden estudiar las proyecciones divergentes o convergentes (Köbbert et al., 2000; Lanciego et al., 2000). Sin embargo, existen limitaciones en la técnica del trazado neuronal que dependen de las características del trazador usado, las técnicas de fijación del tejido y la susceptibilidad de los trazadores a ciertas sustancias usadas para la fijación del tejido, las estructuras y distancias anatómicas donde se pretenden usar (Vercelli et al. 1999; Köbbert et al., 2000). En este trabajo encontramos que las inyecciones de los trazadores retrógrados que realizamos sólo abarcaron las láminas superficiales del asta dorsal (láminas I-III). De esta manera, se muestra una distribución de las proyecciones corticoespinales, como lo reportado previamente (Wise et al., 1979; Ullan y Artieda, 1981; Armand, 1982; Gribnau y Dederen, 1989). Sin embargo, no podemos descartar que los trazadores difundieran más profundamente y fueran incorporados por neuronas de otras zonas de la ME, o bien, por proyecciones localizadas superficialmente de neuronas en zonas más profundas. Así como por la forma en que se aplicaron, pues uno de ellos estaba disuelto en solución (Fluoro Gold) mientras que los otros (Diamidino Yellow y True Blue) se encontraban en forma de cristal, los cuales tardan más en difundir por la médula espinal.

### VIII. 3 Potenciales de campo intraespinales producidos por la estimulación cortical

La estimulación de la corteza sensoriomotora provoca respuestas de campo intraespinales distintas a diferentes profundidades. Cuando se estimula la corteza sensoriomotora, la mayor negatividad en el primer componente de los PCI se encuentran en el asta dorsal entre las láminas I-III (figura 7). Asimismo, los sitios de estimulación que provocan mayores respuestas en nuestros experimentos corresponden a las mismas zonas que al ser estimuladas inhiben las respuestas neuronales nociceptivas espinales (Senapati et al 2005a y b; Rojas-Piloni et al 2010) y conductuales (Fonoff et al 2008) en las extremidades posteriores.

Aunque nosotros no encontramos neuronas marcadas en la corteza ipsilateral al sitio de inyección, sí observamos PCI ipsilaterales al sitio de estimulación, esto nos conduce a pensar que las fibras del tracto corticoespinal que no decusan podrían

también ser parte del sistema de modulación descendente del tracto corticoespinal. Esto es importante, dado que se ha observado que en ratas con lesiones espinales unilaterales el tracto corticoespinal, presentan conexiones latentes y también se forman puentes funcionales con conexiones recién formadas que permiten restaurar la función motora para el control del miembro afectado por la lesión (Brus-Ramer et al., 2009), lo cual implica que tanto la vía ipsilateral, como la contralateral son muy importantes.

En la rata, las respuestas de neuronas del asta dorsal de la médula espinal provocadas por estímulos nocivos, pueden ser inhibidas mediante la estimulación de la corteza sensoriomotora (Senapati et al., 2005a y b; Fonoff et al., 2008; Wang et al., 2009; Rojas-Piloni et al., 2010). Los posibles mecanismos de esta inhibición se desconocen, pero podrían involucrar la activación directa de interneuronas inhibitorias en la médula espinal por la vía del tracto corticoespinal, o bien la activación indirecta de estructuras del tallo cerebral, las cuales también descienden a la médula espinal por el tracto bulboespinal (Senapati et al., 2005a y b).

En este trabajo encontramos que los PCI provocados por la estimulación de la corteza sensoriomotora presentan dos componentes: uno de menor latencia ( $22.81 \pm 0.75$  ms y velocidad de conducción  $4.38 \pm 0.02$  ms<sup>-1</sup>) originado en las láminas superficiales del asta dorsal (0-300  $\mu$ m) y, otro de mayor latencia ( $45.09 \pm 2.62$  ms y velocidad de conducción  $2.22 \pm 0.13$  ms<sup>-1</sup>) originado en la sustancia gris intermedia (400-1000  $\mu$ m) de la médula espinal (Paxinos y Watson, 1998).

Nuestros resultados confirman observaciones previas donde se ha reportado que la velocidad de conducción de las fibras del tracto corticoespinal de la rata se encuentra entre 1 y 6 m/s (Towe y Harding, 1970; Mediratta y Nicoll, 1983; Baker et al., 2001; Rojas-Piloni et al., 2010). Así como estudios morfológicos (Leenen et al., 1982; Leenen et al., 1985; Chung y Coggeshall, 1987) y electrofisiológicos (Mediratta y Nicoll, 1983; Maier et al., 2002) en los que se ha analizado el diámetro de las proyecciones y su velocidad de conducción, han mostrado la presencia tanto de axones miélinicos (con diámetros que van de 0.5-3  $\mu$ m) como de amielínicos (con diámetro aproximado de 0.2  $\mu$ m).

Los PCI provocados por la estimulación de la corteza sensoriomotora reflejan la existencia de dos componentes neuronales en la médula espinal. Sin embargo, en nuestro trabajo con la metodología usada, no es posible discernir si ambos grupos de neuronas espinales se activan por influencia directa de las proyecciones corticoespinales o bien se lleva a cabo de manera indirecta. A pesar de ello, existe un gran número de proyecciones del tracto corticoespinal a nivel lumbar terminan tanto en el asta dorsal como en regiones más profundas (Armand, 1982; Yerzierski et al., 1983; Lemon y Griffiths, 2005; Willis, 2006).

El papel funcional de las dos poblaciones de neuronas en la corteza sensoriomotora que proyectan hacia la médula espinal no es del todo claro. Sin embargo, la organización de las proyecciones corticoespinales entre las especies bien pueden reflejar diferencias en las contribuciones hechas por este sistema (Lemon y Griffiths, 2005). Cada especie animal muestra una distribución característica del diámetro axonal dentro del tracto corticoespinal. Las diferencias del grosor y velocidad de conducción de las fibras en el sistema nervioso periférico refleja diferencias en su función, y es probable que en una vía tan importante del sistema nervioso como es el tracto corticoespinal, las fibras de diferente grosor tengan también diferentes funciones.

En humanos, se ha usado la estimulación de la corteza motora para producir analgesia y alivio del dolor en la terapia contra el dolor crónico de diferentes orígenes (Brown y Barbaro, 2003). El origen del dolor que puede ser tratado con la estimulación cortical varía desde dolor central (Katayama et al., 1998; Katayama et al., 2003), dolor neuropático (Nguyen et al., 1999; Carroll et al., 2000) y dolor del miembro fantasma (Topper et al., 2003), lo que indica que la estimulación de la corteza motora podría ser un tratamiento para el dolor intratable y resistente a la terapia con analgésicos.

Sin embargo, en humanos poco se sabe de los mecanismos implicados en el control de la información nociceptiva por la corteza sensoriomotora. En diversos modelos animales, se ha tratado de dilucidar los mecanismos a través de los cuales la corteza sensoriomotora modula las respuestas nociceptivas espinales. En este sentido, la estimulación de la corteza sensoriomotora en gatos y monos produce potenciales de la raíz dorsal (Abdelmoumene et al., 1970) y depolarización de las aferentes primarias

musculares y cutáneas de bajo umbral (Andersen et al., 1962; Andersen et al., 1964; Rudomin et al., 1986; Eguibar et al., 1997; Rojas-Piloni et al., 2010). Sin embargo, no se conoce si las aferentes del grupo C se encuentran sujetas al mismo control cortical.

Finalmente, es importante mencionar que debido a limitaciones metodológicas, en este estudio no realizamos el trazado neuronal en los mismos animales en los que se realizan los registros de los PCI. Este tipo de estudios permitirían incrementar la probabilidad de marcar solamente las terminales corticoespinales que llegan a los sitios de la médula espinal en donde ocurre la máxima negatividad de los PCI.

## IX. CONCLUSIONES

1. Las neuronas de la corteza sensoriomotora proyectan de manera individual a las láminas superficiales del asta dorsal de la médula espinal, en los segmentos L3, L4 y L5.
2. La población de neuronas de la corteza sensoriomotora que proyecta al asta dorsal del segmento L4-L5 de la médula espinal constituye una población diferente de la que proyecta al asta ventral.
3. Los potenciales de campo intraespinales provocados por la estimulación cortical son mayores cuando se estimulan los sitios donde se localizan las neuronas que proyectan al asta dorsal de la médula espinal
4. Los potenciales de campo intraespinales contralaterales al sitio de estimulación muestran tener mayores amplitudes que los ipsilaterales.
5. Los potenciales de campo intraespinales provocados por la estimulación de la corteza sensoriomotora presentan dos componentes: uno de menor latencia ( $22.81 \pm 0.75$  ms) originado en las láminas superficiales del asta dorsal y, otro de mayor latencia ( $45.09 \pm 2.62$  ms) originado en la sustancia gris intermedia de la médula espinal.

## X. REFERENCIAS

- Abdelmoumène M, Besson JM y Aléonard P. 1970. Cortical areas exerting presynaptic inhibitory action on the spinal cord in cat and monkey. *Brain Res* 20,327–329.
- Akintunde A y Buxton DF. 1992a. Differential sites of origin and collaterilization of the corticospinal tract in the rat: a multiple retrograde fluorescent tracer study, *Brain Res* 575, 86-92.
- Akintunde A y Buxton DF. 1992b. Origins and collateralization of corticospinal, corticopontine, corticorubral and corticostriatal tracts: a multiple retrograde fluorescent tracing study. *Brain Res* 586, 208-218.
- Amaral, DG. 2000a. The anatomical organization of the nervous system. En Kandell, ER, Schwartz JH, Jessell, TM (Eds.), *Principles of neural science*. (pp. 317-336), United States of America: McGraw-Hill.
- Amaral, DG. 2000b. The functional organization of the perception and movement. En Kandell, ER, Schwartz JH, Jessell, TM (Eds.), *Principles of neural science*. (pp. 337-348), United States of America: McGraw-Hill.
- Andersen P, Eccles JC y Sears TA. 1964. Cortically evoked depolarization of primary afferent fibers in the spinal cord. *J Neurophysiol* 27,63–77.
- Armand J. 1982. The origin, course and terminations of corticospinal fibres in various mammals. *Prog Brain Res* 57, 329-360.
- Armengol JA. 1998. Centros y vías nerviosas. Diencefalo, ganglios de la base y corteza cerebral. En *Manual de Neurociencia*. España: Síntesis.
- Asanuma H. 1975. Recent developments in the study of the columnar arrangement of neurons within the motor cortex. *Physiol Rev* 55, 143-156.
- Bausbaum AI y Jessell TM. 2000. The perception of pain. En Kandell, ER, Schwartz JH, Jessell, TM (Eds.), *Principles of neural science*. (pp. 472-490), United States of America: McGraw-Hill.

- Brösamle C y Schwab ME. 1997. Cells of origin, course, and termination patterns of the ventral, uncrossed component of the mature rat corticospinal tract. *J Comp Neurol* 386, 293–303.
- Brown JA y Barbaro NM. 2003. Motor cortex stimulation for central and neuropathic pain: current status. *Pain* 104, 431-435.
- Brown LT. 1971. Projections and terminations of the corticospinal tracts in rodents. *Exp Brain Res* 13, 432-450.
- Brown RD. 1981. The failure of local anesthesia in acute inflammation. Some recent concepts. *Brit Dent J* 151, 47-51.
- Brus-Ramer M, Carmel JB, Chakrabarty S y Martin JH. 2007. Electrical stimulation of spared corticospinal axons augments connections with ipsilateral spinal motor circuits after injury. *J Neurosci* 27, 13793–13801.
- Brus-Ramer M, Carmel JB y Martin JH. 2009. Motor cortex bilateral motor representation depends on subcortical and interhemispheric interactions. *J Neurosci* 29, 6196-6206.
- Canedo A. 2003. Heterogeneidad funcional del sistema piramidal: tractos corticobulbar y corticoespinal. *Rev Neurol* 36, 438-452.
- Canavero S, Bonicalzi V, Dotta M, Vighetti S, Asteggiano G y Cocito D. 2002. Transcranial magnetic cortical stimulation relieves central pain. *Stereot Funct Neuros* 78, 192-196.
- Carmel JB, Berrol LJ, Brus-Ramer M y Martin JH. 2010. Chronic electrical stimulation of the intact corticospinal system after unilateral injury restores skilled locomotor control and promotes spinal axon outgrowth. *J Neurosci* 32, 10918- 10926.
- Carpenter D, Lundberg A y Norrsell U. 1963. Primary afferent depolarization evoked from the sensorimotor cortex. *Acta Physiol Scand* 59,126–142.
- Carpenter MB. 1994. Haces de la médula espinal. En *Neuroanatomía fundamentos*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.

- Carroll D, Joint C, Maartens N, Shlugman D, Stein J y Aziz TZ. 2000. Motor cortex stimulation for chronic neuropathic pain: a preliminary study of 10 cases. *Pain* 84, 431-437.
- Casale EJ, Light AR y Rustioni A. 1988. Direct projection of the corticospinal tract to the superficial laminae of the spinal cord in the rat. *J Comp Neurol* 278, 275-286.
- Cervero F. 1994. Sensory innervation of the viscera: peripheral basis of visceral pain. *Physiol Rev* 74, 95-138.
- Cheema SS, Rustioni A y Whitsel BL. 1984. Light and electron microscopic evidence for a direct corticospinal projection to superficial laminae of the dorsal horn in cats and monkeys. *J Comp Neurol* 225, 276-290.....
- Chen Kuan-Hung, Yang Chien-Hui, Cheng Jiin-Tsuey, Wu Chih-Hsien, Sy Wei-Dih y Lin Chung-Ren. 2010. Altered neuronatin espression in the rat dorsal root ganglion after sciatic nerve transaction. *J Biomed Sci* 17, 1-7.
- Chung K y Coggeshall RE. 1987. Postnatal development of the rat funiculus. *J Neurosci* 7, 972-977.
- Condés-Lara M, Rojas-Piloni G, Martínez-Lorenzana G, López-Hidalgo M, Rodríguez-Jiménez J. 2009. Hypothalamospinal oxytocinergic antinociception is mediated by GABAergic and opiate neurons that reduce A-delta and C fiber primary afferent excitation of spinal cord cells. *Brain Res* 1247, 38-49.
- Coulter JD, Maunz RA, Willis WD. 1974. Effects of the stimulation of sensorimotor cortex on promate spinothalamic neurons. *Brain Res* 65, 351-356.
- Craig AD. 2003. Pain mechanisms: labeled lines versus convergence in central processing. *Ann Rev Neurosci* 26, 1-30.
- Darian-Smith I y Yokota T. 1966. Cortically evoked depolarization of trigeminal cutaneous afferent fibers in the cat. *J Neurophysiol* 29,170–184.
- Darian-Smith I y Johnson KO. 1977. Temperature sense in the primate. *Brit Med Bull* 33, 143-148.

- Deschenes M, Labelle A y Landry P. 1979. Morphological characteristics of slow and fast PT-cells in the cat. *Brain Res* 178, 251-274.
- Eccleston C y Crombez G. 1999. Pain demands attention: a cognitive affective model of the interruptive function of pain. *Psychol Bull* 125, 356-366.
- Eguibar JR, Quevedo J, Jiménez I y Rudomin P. 1994. Selective cortical control of information flow through different intraspinal collaterals of the same muscle afferent fiber. *Brain Res* 643,328–333.
- Eguibar JR, Quevedo J y Rudomin P. 1997. Selective cortical and segmental control of primary afferent depolarization of single muscle afferents in the cat spinal cord. *Exp Brain Res* 113, 411-430.
- Endo K, Araki T, Yagi N. 1973. The distribution and pattern of axón branching of pyramidal tract cells. *Brain Res* 57, 484-491.
- Fields HL, Heinricher MM y Mason P. 1991. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. *Ann Rev Neurosci* 14, 219–245.
- Fields HL, Basbaum AI y Heinricher M. 2006. Central nervous system mechanisms of pain modulation. En McMahon SB y Koltzenburg M (Eds). *Wall and Melzack's text book of pain*. Philadelphia: Elsevier.
- Fonoff E, Squarzoni C, Lima R, Cicconi C, Ballester G, Jacobsen M y Giorgi R. 2009. Antinociception induced by epidural motor cortex stimulation in naive conscious rats is mediated by the opioid system. *Behav Brain Res* 196, 63-70.
- Garcia-Larrea L, Peyron R, Mertens P, Gregoire MC, Lavenne F, Bonnefoi F, Mauguiere F, Laurent B y Sindou M. 1997. Positron emission tomography during motor cortex stimulation for pain control. *Stereot Funct Neuros* 68, 141–8.
- Garcia-Larrea L, Peyron R, Mertens P, Gregoire MC, Lavenne F, Le Bars D, Convers P, Mauguiere F, Sindou M y Laurent B. 1999. Electrical stimulation of motor cortex for pain control: a combined PET-scan and electrophysiological study. *Pain* 83, 259–73.

- Gribnau AAM y Dederen PJWC. 1989. Collaterization of the cervical corticospinal tract in the rat. *Neurosci Lett* 105, 47-51.
- Hall RD y Lindholm EP. 1974. Organization of motor and somatosensory neocortex in the albino rat. *Brain Res* 66, 23-38.
- Hattox AM y Nelson SB. 2007. Layer V neurons in mouse cortex projecting to different targets have distinct physiological properties. *J Neurophysiol* 98, 3330-3340.
- Hubel DH y Wiesel TN. 1962. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *J Physiol* 160, 106-154.
- Hubel DH y Wiesel TN. 1972. Laminar and columnar distribution of geniculo-cortical fibers in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 146, 421-450.
- Jo YH, Stoeckbel ME, Freund-Mercier MJ, Schlichter R. 1998. Oxytocin modulates glutamatergic synaptic transmission between cultured neonatal spinal cord dorsal horn neurons. *J Neurosci* 18, 2377-2386.
- Joosten EAJ y Gribnau AAM. 1988. Unmyelinated corticospinal axons in adult rat pyramidal tract. An electron microscopic tracer study. *Brain Res* 459, 173-177.
- Katayama Y, Fukaya C y Yamamoto T. 1998. Post stroke pain control by chronic motor cortex stimulation: neurological characteristics predicting a favorable response. *J Neurosurg* 89, 585-591.
- Katayama Y, Yamamoto T, Kobayashi K, Oshima H y Fukaya C. 2003. Deep brain and motor cortex stimulation for post-stroke movement disorders and post-stroke pain. *Acta Neurochir Suppl* 87, 121-123.
- Köbbert C, Apps R, Bechmannl, Lanciego JL, Mey J y Thanos S. 2000. Current concepts in neuroanatomical tracing. *Prog Neurobiol* 62, 327-351.
- Koltzenburg M, Lewin GR, Toyka KV, Thoenen H y Carrol P. 1995. Electrophysiological analysis of cutaneous sensory neurons in neonatal wildtype mice and transgenic animals lacking BDNF. *Soc Neurosci* 21, 1054.

- Kuypers HGJM. 1981. Anatomy of the descending pathways. En: Brookhart JM, Mountcastle VB, Brooks VB and Geiger SR (Eds). Handbook of Physiology. Sect 1: The Nervous System. Vol II: Motor Control, Part 1. (pp 597-666), Baltimore, Md: Williams and Wilkins.
- Lanciego, JL, Wouterlood FG, Erro E, Arribas J, Gonzalo N, Urra X, Cervantes S y Giménez-Amaya JM. 2000. Complex brain circuits studied via simultaneous and permanent detection of three transported neuroanatomical tracers in the same histological section. *J Neurosci Meth* 103, 127-135.
- Leenen L, Meek J y Nieuwenhuys R. 1982. Unmyelinated fibers in the pyramidal tract of the rat: a new view. *Brain Res* 246, 297-301.
- Leenen L, Meek J, Posthuma PR y Nieuwenhuys R. 1985. A detailed morphometrical analysis of the pyramidal tract of the rat. *Brain Res* 359, 65-80.
- Lende RA. 1969. A comparative approach to the neocortex localization in monotremes, marsupiales, and insectivores. *Ann NY Acad Sci* 167, 262-275.
- Lima D y Almeida. 2002. The medullary dorsal reticular nucleus as a pronociceptive centre of the pain control system. *Prog Neurobiol* 66, 81-108.
- Lemon RN y Griffiths J. 2005. Comparing the function of the corticospinal system in different species: organizational differences for motor specialization?. *Muscle and Nerve* 32, 261-279.
- Lindblom U y Ottoson J. 1957. Influence of pyramidal stimulation upon the relay of coarse cutaneous afferents in the dorsal horn. *Acta Physiol Scand* 3, 309–18.
- Maier MA, Armand J, Kirkwood PA, Yang HW, Davis JN y Lemon RN. 2002. Differences in the corticospinal projection from primary motor cortex and supplementary motor area to macaque upper limb motoneurons: an anatomical and electrophysiological study. *Cereb Cortex* 12, 281-296.
- Markus P., Gross J., Timmermann L., Pollok B. y Schnitzler A. 2005. Pain suppresses spontaneous brain rhythms. *Cereb Cortex* 16, 537-540.

- McMahon, SB y Koltzenburg, M. 1990a. Novel classes of nociceptors: beyond Sherrington. *Trends Neurosci* 13, 199-201.
- McMahon SB y Koltzenburg, M. 1990b. The changing role of primary afferent neurones in pain. *Pain* 43, 269-272.
- Mediratta NK y Nicoll JAR. 1983. Conduction velocities of corticospinal axons in the rat studied by recording cortical antidromic responses. *J Physiol* 336, 545-561.
- Melzack R y Wall PD. 1965. Pain mechanisms: a new theory. *Science* 150, 971-979.
- Meyerson B. 2005. Motor cortex stimulation-effective for neuropathic pain but the mode of action remains illusive. *Pain* 118, 6-7.
- Millan MJ. 1999. The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol* 57, 1-164.
- Millan MJ. 2002. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 66, 355-474.
- Miller WM. 1987. The origin of corticospinal projections neurons in rat. *Exp Brain Res* 67, 339-351.
- Mountcastle VB. 1957. Modality and topographic properties of single neurons of cat's somatic sensory cortex. *J Neurophysiol* 20, 408-434.
- Nathan PW. 1976. The gate-control theory of pain. A critical review. *Brain* 99,123-158.
- Nguyen JP, Lefaucheur JP, Decq P, Uchiyama T, Carpentier A, Fontaine D, Brugieres P, Pollin B, Fève A, Rostaing S, Cesaro P y Keravel Y. 1999. Chronic motor cortex stimulation in the treatment of central and neuropathic pain. Correlations between clinical, electrophysiological and anatomical data. *Pain* 82, 245-251.
- Pagano RL, Assis DV, Clara JA, Adilson SA, Dale CS, Teixeira MJ, Fonoff ET y Britto LR. 2011. Transdural motor cortex stimulation reverses neuropathic pain in rats: A profile of neuronal activation. *Eur J Pain* 15, 268.e1-268.e14.
- Paxinos G y Watson C. 1998. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. New York: Academic Press.

- Peyron R, Garcia-Larrea L, Deiber MP, Cinotti L, Convers P, Sindou M, Mauguiere F y Laurent B. 1995. Electrical stimulation of precentral cortical area in the treatment of central pain: electrophysiological and PET study. *Pain* 62, 275–86.
- Pierrot-Deseilligny E y Burke D. 2005. The circuitry of the human spinal cord: its role in motor control and movement disorders. Cambridge: Cambridge University Press.
- Pinto V, Szûcs P, Derkach VS, Safranov BV. 2008. Monosynaptic convergence of C- and Delta-afferent fibers from different segmental dorsal roots on to single substantia gelatinosa neurons in the rat spinal cord. *J Physiol* 586, 4165-4177.
- Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia AS y McNamara JO. 2004. *Invitación a la neurociencia*. Buenos Aires: Panamericana.
- Rojas-Piloni G, López-Hidalgo M, Martínez-Lorenzana G, Rodríguez-Jiménez J y Condés-Lara M. 2007. GABA-mediated oxytocinergic inhibition in dorsal horn neurons by hypothalamic paraventricular nucleus stimulation. *Brain Res* 1137, 69-77.
- Rojas-Piloni G, Martínez-Lorenzana G, Condés-Lara M y Rodríguez-Jiménez J. 2010. Direct sensorimotor corticospinal modulation of dorsal horn neuronal C-fiber responses in the rat. *Brain Res* 1351, 104-114.
- Rudomin P, Solodkin M y Jiménez I. 1986. PAD and PAH response patterns of group Ia and Ib-fibers to cutaneous and descending inputs in the cat spinal cord. *J Neurophysiol* 56, 987-1006.
- Schaible HG y Grubb BD. 1993. Aferent and spinal mechanism of joint pain. *Pain* 55, 5-54.
- Schieber MH. 1999. Voluntary descending control. En MJ. Zigmond, FE. Bloom, SC. Landis, JL. Roberts y LR. Squire (Eds.), *Fundamental neuroscience*.
- Schieber MH. 2007. Chapter 2 Comparative anatomy and physiology of the corticospinal system. *Handb Clin Neurol* 82, 15-37.
- Schmued LC y Fallon JH. 1986. Fluoro-Gold: a new fluorescent retrograde axonal tracer with numerous unique properties. *Brain Res* 377, 147-154.

- Senapati AK, Huntington PJ y Peng YB. 2005a. Spinal dorsal horn neuron response to mechanical stimuli is decreased by electrical stimulation of the primary motor cortex. *Brain Res* 1036, 173-179.
- Senapati AK, Huntington PJ y LaGraize SC. 2005b. Electrical stimulation of the primary somatosensory cortex inhibits spinal dorsal horn neuron activity. *Brain Res* 1057, 134-140.
- Shore S, Zhou J y Koehler S. 2007. Neural mechanisms underlying somatic tinnitus. *Progress in Brain Res* 166, 107-123.
- Swanson LW y Mckellar S. 1979. The distribution of oxytocin and neurophysin-stained fibers in the spinal cord of the rat and monkey. *J Comp Neurol* 188, 87-106.
- Takahashi K. 1965. Slow and fast groups of pyramidal tract cells and their respective membrane properties. *J Neurophysiol* 28, 908-924.
- Topper R, Foltys H, Meister IG, Sparing R y Boroojerdi B. 2003. Repetitive transcranial magnetic stimulation of the parietal cortex transiently ameliorates phantom limb pain-like syndrome. *Clin Neurophysiol* 114, 1521-1530.
- Treede RD, Meyer RA, Raja SN y Campbell JN. 1992. Peripheral and central mechanisms of cutaneous hyperalgesia. *Prog Neurobiol* 38, 397-421.
- Ullan J y Artieda J. 1981. Somatotopy of the corticoespinal neurons in the rat. *Neurosci Lett* 21, 13-18.
- Viisanen H y Pertovaara A. 2011. Antinociception by motor cortex stimulation in the neuropathic rat: does the locus coeruleus play a role?. *Exp Brain Res* 201, 283-296.
- Villanueva L y Fields H. 2004. Endogenous central mechanisms of pain modulation. In: Villanueva L, Ollat, Dickenson A, (Eds), *The Pain System in Normal and Pathological States: A Primer for Clinicians*.
- Vercelli A, Repici M, Garbossa D y Grimaldi A. 1999. Recent techniques for tracing pathways in the central nervous system of developing and adult mammals. *Brain Res Bull* 51, 11-28.

- Wang N, Wang Jin-Yan, Luo F. 2009. Corticofugal outputs facilitate acute, but inhibit chronic pain in rats. *Pain* 142, 108-115.
- Watson C y Harvey R. 2009. Projections from the brain to the spinal cord.. 168-179. En: Watson C, Paxinos G y Kayalioglu G (Eds.). *The spinal cord* (pp. 168-179). China: Elsevier Academic Press.
- Waxman, GS.2010. *Clinical neuroanatomy*. McGraw-Hill.
- Welker C. 1971. Microelectrode delineation of fine grain somatotopic organization of Sml neocortex in the albino rat. *Brain Res* 26, 259-275.
- Willis W. 2006. Neuroanatomical considerations. En: Shimoji K y Willis WD (Eds.), *Evoked spinal cord potentials*. (pp. 21-24), Japan: Springer.
- Wise SP, Murray EA y Coulter JD. 1979. Somatotopic organization of corticospinal and corticotrigeminal neurons in the rat. *Neurosci* 4, 65-78.
- Yeziarski RP, Gerhart KD, Schrock BJ, Willis WD. 1983. A further examination of effects of cortical stimulation on primate spinothalamic tract cells. *J Neurophysiol* 49, 424-441.
- Yoshimura M y Furue H. 2006. Mechanisms for the anti-nociceptive actions of the descending noradrenergic and serotonergic systems in the spinal cord. *J Pharmacol Sci* 101, 107-117.

## LISTA DE FIGURAS

1	Vías descendentes involucradas en la modulación de la información nociceptiva	4
2	Localización en la médula espinal de las vías descendentes y ascendentes más importantes en rata, humano y gato	7
3	Sitios de inyección en los segmentos lumbares de la médula espinal	19
4	Distribución de las neuronas que proyectan a L3 marcadas con DY, L4 marcadas con FG (cruces naranjas) y a L5 marcadas con TB en la corteza sensoriomotora contralateral al sitio de inyección	21
5	Sitios de inyección en el segmento lumbar L5 de la médula espinal	23
6	Distribución de las neuronas que proyectan al asta dorsal y ventral a nivel de L5, marcadas con FG y TB en la corteza sensoriomotora contralateral al sitio de inyección	24
7	Distribución de las neuronas marcadas que proyectan al asta dorsal y al asta ventral en la parte de la corteza sensoriomotora que representa la corteza motora primaria y la región de las extremidades anteriores en la corteza somatosensorial primaria	25
8	Potencial de campo intraespinal provocado por la estimulación de la corteza sensoriomotora en el punto más rostral de la matriz de estimulación (AP +2, lateralidad +2)	26
9	Comparación de los PCI contra e ipsilaterales al sitio de estimulación	27
10	PCI a diferentes profundidades de la médula espinal	28
11	Amplitud de las respuestas de campo provocadas por la estimulación de la corteza sensoriomotora en diferentes puntos y profundidades	29