

00377



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO 31

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

"EFECTO DE LA LESION MEDULAR A NIVEL TORACICO SOBRE LOS REFLEJOS MONOSINAPTICO Y "H" DE LA RATA"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P R E S E N T A :

BIOL. CELIA REYES LEGORRETA

DIR. TESIS: DR. ROSALINDA GUEVARA GUZMAN

MEXICO, D. F.



SEPTIEMBRE 2003.

COORDINACIÓN

A

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

**PAGINACION
DISCONTINUA**



FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

OFICIO FCIE/DEP/0245/03

ASUNTO: Asignación de Jurado

ING. LEOPOLDO SILVA GUTIÉRREZ
DIRECTOR GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
P R E S E N T E.

At'n: BIÓL. FRANCISCO J. INCERA UGALDE

Comunico a usted que el Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas ha asignado al(a) BIÓL. CELIA REYES LEGORRETA, el jurado para presentar Examen de Grado de MAESTRO(A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA EXPERIMENTAL):

PRESIDENTE	DR.	ISMAEL JIMÉNEZ ESTRADA
VOCAL	DRA.	LETICIA MORALES LEDESMA
SECRETARIO	DRA.	ROSALINDA GUEVARA GUZMÁN
SUPLENTE	DRA.	MARÍA ELENA AYALA ESCOBAR
SUPLENTE	DR.	JOSÉ MARÍA FARIAS SÁNCHEZ

El título de la tesis es:

"EFECTO DE LA LESIÓN MEDULAR A NIVEL TORÁCICO SOBRE LOS REFLEJOS MONOSINÁPTICO Y "H" DE LA RATA"

bajo la dirección del (a):

DRA. ROSALINDA GUEVARA GUZMÁN

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D. F., 4 de abril del 2003
COORDINADORA


DRA. TILA MARÍA PÉREZ ORTIZ

TMPOIASRlgrf*



B

Para la realización del trabajo se contó con el apoyo de una beca otorgada por CONACYT, además de las facilidades proporcionadas por la Facultad de Medicina, UNAM. La parte histológica de este proyecto se llevó a cabo en los laboratorios de Sensorial I y II del Departamento de Fisiología a cargo de la Dra. Rosalinda Guevara Guzmán.

El trabajo experimental se realizó en el laboratorio 11 del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV, IPN a cargo del Dr. Ismael Jiménez Estrada.

Asimismo se contó con el apoyo del Centro Nacional de Rehabilitación, Secretaría de Salud, en el laboratorio de Neurofisiología, Torre de Investigación a cargo del Dr. Alberto E. Nuño Licona para los efectos de este trabajo.

Este trabajo se realizó bajo la dirección de la Dra. Rosalinda Guevara Guzmán.

El comité tutorial estuvo conformado por:
Dra. Rosalinda Guevara Guzmán.
Dra. Leticia Morales Ledesma.
Dra. María Elena Ayala Escobar.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C

AGRADECIMIENTOS.

Quiero expresar mi agradecimiento a la Dra. Rosalinda Guevara Guzmán por la confianza depositada en mí y la valiosa dirección en la realización del presente trabajo.

Al Dr. Ismael Jiménez Estrada con mi más profundo agradecimiento, por su apoyo y paciencia, por compartir sus conocimientos, sus valiosas críticas e inagotable interés a lo largo de la elaboración de este trabajo y por todo el tiempo dedicado durante mi estancia en su laboratorio.

A la Dra. Berta Segura Alegría por su colaboración, asesorías y apoyo constante, gracias a sus conocimientos gran parte del trabajo fue posible, no sólo en todo lo que implica la realización de éste desde el punto de vista puramente académico, sino como una excelente consejera.

Al Dr. Alberto E. Nuño Licona por su apoyo, paciencia y confianza brindada sin restricción en todo el tiempo que llevó la elaboración de este trabajo.

A la Bióloga Alejandra Reza Abundio por su apoyo constante, por compartir sus conocimientos, por su paciencia y gran ayuda en la realización de los experimentos y quien fue parte importante en este trabajo, pero aun más importante por contar con su amistad.

Al Químico José Carlos Guadarrama Olmos por sus valiosas aportaciones en la realización del presente trabajo, por compartir sus conocimientos en el apoyo técnico y cuidado de los animales para la ejecución de los experimentos.

Al Ingeniero Efrén Alatorre Miguel por su apoyo en el desarrollo del análisis estadístico así como por sus valiosos comentarios y sugerencias, por transmitir y compartir sus conocimientos, por sus invaluable aportaciones en la realización del presente trabajo, por levantar mi ánimo cuando más lo he necesitado y por la confianza que siempre me brindó así como por demostrarme su amistad incondicional.

A los miembros del jurado por el tiempo dedicado en la revisión del manuscrito y que hicieron valiosas aportaciones para enriquecer el trabajo: Dr. Ismael Jiménez Estrada, Dra. Leticia Morales Ledesma, Dra. Rosalinda Guevara Guzmán, Dra. María Elena Ayala Escobar y Dr. José María Fariás Sánchez.

A todas aquellas personas de las cuales recibí una palabra de aliento y apoyo, a lo largo de la elaboración de este trabajo.

DEDICO EL PRESENTE TRABAJO

A mis Padres: Gregorio y Celia con todo mi cariño, admiración, agradecimiento y respeto, porque me han enseñado a luchar por lo que deseo y no darme por vencida ante nada ni nadie, a no temer al fracaso ni a la ignorancia, a no claudicar y perseverar, a ser fuerte y firme como la torre que por más que soplen los vientos no se inclina y a luchar por más que en el camino exista sufrimiento.

A mis Hermanos: Gregorio, Reyna, José Luis, Julio y Elizabeth por todo su cariño y el apoyo que me han brindado en todo momento, porque me han enseñado que siempre hay algo por lo que se debe seguir adelante y nunca desistir para llegar a alcanzar lo anhelado.

A mis Sobrinos: Gabriela, Roberto, Mariana, Adriana, Jonathan, Maribel, Claudia y Elizabeth porque día a día me muestran que hay algo nuevo que aprender, por recordarme lo importante que es no dejar de ser un niño y dejar volar la imaginación así mismo el ser tolerante y flexible con un adolescente.

A mis Amigos: Alejandra, Clementina, Carmen, José Juan, Angélica, Efrén, Víctor, Mayté, Juan Manuel, Humberto, Ernesto, Gaby, José Carlos Salvador, Dagoberto y a todos aquellos amigos los cuales no son mencionados pero no por ello son menos importantes, por darme ánimos de luchar cuando el trabajo era agobiante, por siempre tener una sonrisa de aliento y ayudarme a alcanzar este momento.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

E

INDICE

RESUMEN	I
INTRODUCCIÓN	1
I. ORGANIZACIÓN FUNCIONAL DE LA MÉDULA ESPINAL.	1
A. GENERALIDADES	1
B. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS GENERALES DE LA MÉDULA ESPINAL	2
C. TIPOS DE NEURONAS	10
II. CIRCUITOS NEURONALES	18
III. REFLEJOS	21
IV. LESIONES	26
ANTECEDENTES	31
PROBLEMA	35
HIPÓTESIS	35
OBJETIVOS GENERALES	35
OBJETIVOS PARTICULARES	35
METODOLOGÍA	37
-PROCEDIMIENTOS GENERALES	37
-CONTUSIÓN ESPINAL	37
-DETERMINACIÓN DE LAS RESPUESTAS MOTORAS	38
-REGISTRO DE LA ACTIVIDAD REFLEJA	39
-PERFUSIÓN	42
-HISTOLOGÍA	43
RESULTADOS	44
-ANÁLISIS HISTOLÓGICOS DE LAS LESIONES PRODUCIDAS POR LA CONTUSIÓN DE LA MÉDULA ESPINAL TORÁCICA	44
-EFECTO DE LA CONTUSIÓN ESPINAL SOBRE LAS PAUTAS CONDUCTUALES MOTORAS	46
-EFECTO DE LA CONTUSIÓN TORÁCICA SOBRE LAS RESPUESTAS ELECTRONEUROGRÁFICAS Y ELECTROMIOGRÁFICAS DE LA RATA	48
DISCUSIÓN	55
CONCLUSIONES	59
BIBLIOGRAFÍA	60

TESE CON
FALLA DE ORIGEN

F

RESUMEN

Uno de los traumatismos más frecuentes que se atienden en la clínica es la lesión o contusión de la médula espinal a nivel torácico. Los efectos que ella produce han sido estudiados desde muy diversos puntos de vista, entre los que se encuentran, el morfológico, el conductual y el electrofisiológico. Sin embargo poco se conoce sobre el efecto que produce una lesión torácica por contusión sobre la actividad refleja de la médula espinal.

El presente trabajo tiene como objetivo el establecer las posibles alteraciones que producen lesiones por contusión de la médula espinal a nivel torácico, sobre la amplitud del reflejo monosináptico y el reflejo H, registrados simultáneamente en la rata.

Para ello, se utilizaron tres grupos de ratas (n=6 por lote). A dos grupos de animales se les lesionó la médula espinal por contusión, a nivel de la octava vértebra torácica, siguiendo la metodología de Gale y cols. (1985) y el grupo restante permaneció ileso. Al 3er. (primer grupo) o al 10o. (segundo grupo) día post-lesión, los animales fueron anestesiados y se expusieron los nervios ciático y tibial de las extremidades posteriores para estimulación y registro del potencial de acción compuesto (PAC) y del reflejo monosináptico (RMS), respectivamente. Se introdujo un par de electrodos finos en los músculos plantares (entre el cuarto y quinto metatarso de la pata) para registrar las respuestas directas (onda M) o reflejas (onda H) producidas por la estimulación del nervio ciático (pulso único, 1 cada 8 segundos).

TRABAJO CON
FALLA DE ORIGEN

Los resultados obtenidos indican que la contusión torácica de la médula espinal produjo una reducción en la amplitud del PAC, la onda M y H a los 3 días post-lesión con respecto a la obtenida en los animales control, tal efecto se mantuvo hasta los 10 días post-lesión, mientras que la amplitud del RMS a los 10 días sufrió un incremento significativamente mayor (180%) que el RMS provocado en los animales control.

Al determinar las relaciones de entrada-salida de las distintas respuestas registradas (electroneurograma; ENG y electromiograma; EMG), la relación RMS/PAC se ve notoriamente incrementada a los 10 días post-lesión, lo cual contrasta con la relación Reflejo H/PAC, la cual adquiere valores significativamente menores que los obtenidos de animales control al 3er. y 10o. día post-lesión, los valores de la relación Onda M/PAC no presentan diferencias significativas entre sí, antes y después de la contusión torácica.

Con respecto al efecto de la contusión espinal sobre las pautas motoras, a los 3 días posteriores a la contusión espinal se produce una drástica reducción en la conducta locomotora de la rata experimental; efectos similares fueron observados al analizar el reflejo de extensión de dedos y de la articulación del tobillo de las patas traseras de los animales lesionados a los 3 días post-lesión.

A los 10 días post-lesión los animales recuperan hasta un 30% de su capacidad locomotora. Con respecto al reflejo de extensión de los dedos y de la articulación del tobillo de las patas traseras de los animales, estos tuvieron un mayor grado de recuperación (entre 60 y 70%) que la observada en la conducta de marcha, mientras que la respuesta refleja de enderezamiento tuvo una recuperación parcial (hasta 50% de la condición control) a los 10 días post-lesión.

Por último, los cortes histológicos realizados después de la lesión experimental del registro de los reflejos espinales al 3er y 10o. día post-lesión, reflejaron un daño tisular intenso en regiones de la sustancia gris y blanca de la médula espinal torácica.

Estas observaciones permiten sugerir que la lesión por contusión de la médula espinal a nivel torácico produce un efecto diferencial sobre los reflejos monosináptico y H de la rata.

Asimismo, la lesión por contusión de la médula espinal torácica deprime considerablemente la expresión de las pautas motoras de locomoción, enderezamiento y extensión de las extremidades posteriores.

INTRODUCCIÓN

I. ORGANIZACIÓN FUNCIONAL DE LA MÉDULA ESPINAL.

A. GENERALIDADES.

La civilización moderna se caracteriza, entre otras cosas, por medios de transporte cada vez más rápidos y eficientes. No obstante, esto también ha incrementado en gran medida el riesgo de sufrir accidentes y por ende, lesiones traumáticas de diversos tipos y en particular, las asociadas directamente con la columna vertebral.

Para tratar de resolver los problemas relacionados con estas lesiones, se debe conocer mejor la respuesta de la médula espinal ante un trauma de esta naturaleza, por lo que en este trabajo se utilizará a la rata como modelo biológico estandarizado.

Al estudiar el funcionamiento del Sistema Nervioso Central (SNC), se ha observado que la complejidad de su función depende tanto de las propiedades de los conglomerados neuronales (propiedades poblacionales), como de la forma en que se conectan las neuronas y de las características intrínsecas de respuesta de cada una de las neuronas que los conforman. Es por ello que resulta de gran importancia para el estudio de las distintas funciones del SNC, el análisis del funcionamiento de las redes neuronales, poniendo particular énfasis en la forma en que éstas se encuentran interconectadas, ya sea entre sí (como elementos independientes) o con otros grupos neuronales (como conjuntos de elementos individuales), por lo cual es preciso definir con precisión el tipo de acciones sinápticas que se establecen entre las neuronas, de tal manera que ello permita establecer las posibles relaciones funcionales entre los elementos individuales de un conjunto neuronal. La integridad funcional de cada uno de los centros nerviosos que componen el sistema nervioso central, depende en gran medida de la integridad anatómica de cada grupo y elemento neuronal que los constituyen, y también de todos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

aquellos grupos neuronales que mantienen relaciones anatómico-funcionales entre sí. (Ninomiya 1991).

Al conjunto de neuronas y fibras asociadas que participan en la regulación de una función determinada (por ejemplo: la realización de un movimiento) y de cuya integridad depende esa función, se conoce como *centro nervioso*.

Podría considerarse a la médula espinal como un centro nervioso, que interviene en el control de funciones sensoriales y motoras básicas, así como en la regulación de procesos vitales para el mantenimiento de las constantes del medio interno, y que se encuentra constituida por un número definido de elementos neuronales que se encuentran estrechamente interrelacionados entre sí (Ninomiya 1991; Noback y Demarest 1980).

B. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS GENERALES DE LA MÉDULA ESPINAL.

Con el objetivo de dar una breve visión de la complejidad anatómico-funcional de la médula espinal, a continuación se revisarán algunas características y propiedades anatómicas y funcionales de los elementos y grupos neuronales que se localizan en el cordón espinal de los vertebrados.

Entre los elementos neuronales que conforman la médula espinal resaltan los siguientes: en forma genérica se denomina *via aferente* a las fibras nerviosas (axones) que llegan y hacen contacto sináptico con una neurona y *via eferente* a las fibras nerviosas que emergen de neuronas de la médula espinal y que hacen contacto sináptico con otras neuronas supraespinales o con células efectoras (por ejemplo: músculo o glándula endocrina).

Relacionados con la médula espinal, se encuentran elementos neuronales periféricos al SNC, pero que son fundamentales para las funciones de regulación que éstos desempeñan. Podría considerarse, en forma general a los siguientes elementos:

Receptores sensoriales. Este tipo de elementos celulares son, por lo general, células de origen nervioso especializadas en la detección de una forma específica de energía que se presenta en el medio ambiente interno o externo del organismo (por ejemplo: células sensibles a la luz, a las vibraciones, al calor o al frío, a la glucosa, etc.) y su activación depende de las propiedades de membrana que ellas posean (por ejemplo: umbral de activación) y de las estructuras accesorias que las conforman (Ninomiya, 1991). De la estructura sensorial receptora surge una fibra nerviosa *aferente* la cual viaja por alguno de los nervios periféricos y se conecta, por el otro extremo, a una neurona localizada en la médula espinal.

Efectores. Por lo general, los elementos efectores son aquellos grupos de neuronas o células glandulares o motoras que reciben los axones eferentes de la médula espinal (por ejemplo: el sistema muscular o el endocrino), constituyendo así el medio por el cual el SNC manifiesta sus funciones.

Tomando en cuenta su posición en cuanto a la entrada y salida del centro nervioso, podría considerarse que el SNC está constituido por dos tipos de neuronas:

Neuronas efectoras (Golgi tipo I) o de salida, las cuales dan origen a las fibras eferentes y a la "función reguladora" (por ejemplo: las motoneuronas).

Neuronas internunciales, también denominadas como intercalares, intermedias, interneuronas o neuronas tipo II de Golgi, cuyos axones no salen del centro nervioso. Este tipo de neuronas se encuentra conectadas por un lado con las fibras aferentes y por el otro con las neuronas eferentes. Las neuronas internunciales realizan un papel preponderante en el manejo de la información sensorial o motora que llega a la médula espinal y se encargan de establecer los patrones básicos de activación de los elementos efectores en respuesta a la entrada sensorial. Las interneuronas espinales conforman una intrincada

red neuronal, que a la fecha aún no se comprende en su totalidad, dada la enorme complejidad de la misma, cuya activación espontánea o provocada podría dar lugar a patrones estereotipados o no estereotipados de respuesta a un estímulo determinado (Manjarrez, et al. 2000).

Sustancias gris y blanca de la médula espinal.

La información del medio ambiente que llega a la médula espinal y al SNC es codificada por la activación de los receptores periféricos, quienes generan potenciales de acción de acuerdo a la intensidad y la frecuencia en que se presentan los estímulos ambientales. Los potenciales de acción son transmitidos a través de las fibras aferentes y hacen sinapsis con neuronas (interneuronas o motoneuronas) en la médula espinal, las cuales se encargan de enviar la información codificada a diversos sistemas neuronales o efectores del SNC. De la médula espinal surgen los comandos que gobiernan la actividad de los músculos estriados, del músculo liso visceral y de diversas glándulas (subdivisiones toracolumbar-simpática y lumbosacra-parasimpática) del sistema nervioso autónomo (Solodkin, et al. 1998).

La médula espinal es la porción filogenéticamente más antigua del SNC (Sherrington, 1947; Schwab y Bartholdi, 1996; Solodkin M. et al. 1998). Se encuentra alojada en el canal espinal y anatómicamente, se encuentra constituida por dos áreas que son histológicamente diferentes, una transparente a la luz, denominada sustancia blanca y la otra translúcida, denominada sustancia gris. La sustancia blanca esta conformada por fibras poco mielinizadas y no mielinizadas, orientadas en paralelo al eje longitudinal de la médula y en ella no se presentan cuerpos celulares. En cambio, la sustancia gris se encuentra formada por una gran variedad de cuerpos celulares (neuronas, células gliales, vasos sanguíneos), muchas fibras amielínicas y algunas fibras ligeramente mielinizadas que se orientan en ángulo recto al eje longitudinal de la médula (Noback y Demarest,

1980).

La sustancia blanca de cada mitad de la médula espinal está dispuesta en tres funículos o cordones: el *posterior*, colocado entre el surco medio posterior y el cuerno posterior; el *lateral*, entre los cuernos anteriores y posteriores, y el *anterior*, colocado entre el cuerno anterior y el surco medio anterior. Dichos cordones están subdivididos en tractos de fibras llamados también fascículos. La sustancia gris, a su vez, está subdividida en el cuerno posterior, la zona intermedia con su cuerno lateral, y el cuerno anterior. (Figura 1)

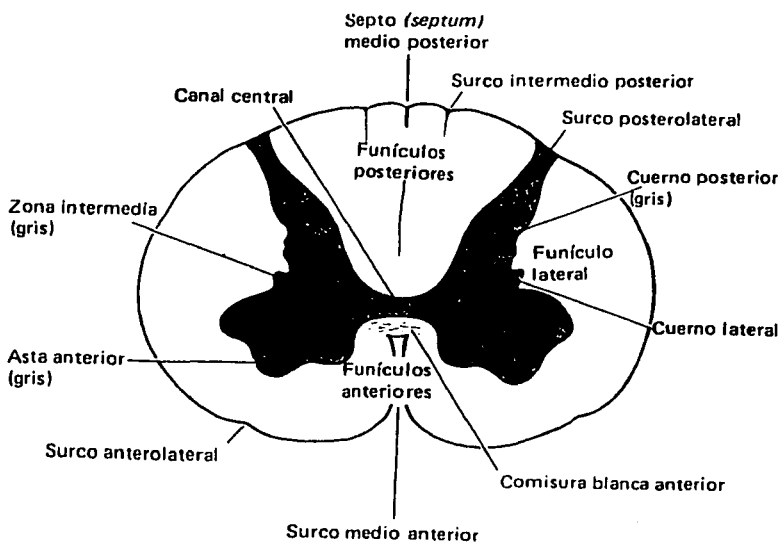


Figura 1. Sección de la médula espinal que ilustra algunas divisiones de la sustancia gris y blanca. La sustancia blanca se compone de tres funículos. La gris se divide en dos cuernos y una región intermedia a cada lado. Las comisuras grises posterior y anterior están colocadas a cada lado del canal. (Noback y Demarest, 1980)

Existen diferencias regionales en los diversos niveles de la médula espinal. La cantidad de sustancia gris en cada nivel espinal está en gran parte relacionada con la riqueza de la inervación periférica, por lo que es más abundante en los segmentos medulares cervicales y lumbosacros, donde existen intumescencias o ensanchamientos; de esta región surge la inervación de los miembros superiores e inferiores. Los niveles torácico y lumbar superior tienen cantidades relativamente menores de sustancia gris debido a que inervan las regiones torácica y abdominal. (Noback y Demarest, 1980)

El número absoluto de fibras nerviosas de la sustancia blanca aumenta a medida que se alcanzan niveles o segmentos espinales más elevados (Noback y Demarest, 1980). Dicho de otra manera, la sustancia blanca de un nivel espinal caudal comparada con la de un nivel cefálico, contiene un menor número de fibras nerviosas. Esta diferencia se debe: 1) a que las fibras adicionales de las vías sensoriales ingresan a la sustancia blanca en cada nivel a medida que se asciende, 2) a que las fibras de las vías descendentes del encéfalo abandonan esta sustancia para terminar en la sustancia gris de cada nivel espinal sucesivo (Noback y Demrest, 1980).

Los cuerpos celulares de la sustancia gris están dispuestos en grupos de núcleos o láminas, las cuales se extienden a través del eje longitudinal de la médula espinal.

Según el trayecto de sus axones, se reconocen dos tipos de células: neuronas radiculares y neuronas columnares. Los cuerpos celulares de las neuronas radiculares dan origen a los axones que emergen de la médula espinal a través de las raíces anteriores o ventrales; se trata de neuronas cuyo cuerpo celular está localizado en el sistema nervioso central y cuyos axones terminan en la periferia, fuera de dicho sistema. Dentro de este grupo se encuentran las motoneuronas alfa y gama, que corresponden al sistema nervioso somático, y las neuronas preganglionares del sistema nervioso autónomo. (Noback. y Demarest, 1980)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Las neuronas columnares tienen axones que terminan dentro del SNC, tanto en la médula espinal como en el encéfalo; comprenden los siguientes tipos: 1) *neuronas intrasegmentarias*, cuyos axones se arborizan y terminan dentro de la sustancia gris de los segmentos espinales en donde se localiza el cuerpo celular; 2) *neuronas intersegmentarias*, que ascienden o descienden en la sustancia blanca antes de terminar en arborizaciones en la sustancia gris de muchos segmentos espinales; 3) *neuronas comisurales*, cuyos axones cruzan de un lado a otro de la médula espinal antes de bifurcarse, arborizar y terminar en la sustancia gris del mismo segmento o de otros segmentos espinales opuestos al lado donde se encuentra el cuerpo celular, y 4) *neuronas suprasegmentarias*, cuyos axones ascienden en el mismo lado llamados ipsilaterales, o se decusan y ascienden en el lado opuesto y son contralaterales, antes de terminar en el cerebro. De acuerdo con el esquema de núcleos, la sustancia gris comprende cierto número de ellos. Los más importantes son el núcleo posteromarginal, la sustancia gelatinosa y el núcleo propio sensorial de los cuernos posteriores, el núcleo torácico (dorsal de Clarke) los núcleos intermedio lateral e intermedio medial de la zona intermedia, y las columnas nucleares medial y lateral del cuerno anterior (Noback. y Demarest, 1980; Muñoz-Martínez y García, 1998).

Según Rexed (1954), en un corte transversal de la médula espinal pueden distinguirse nueve zonas o láminas, que forman parte de otras tantas columnas en el eje longitudinal (Figura 2). La nomenclatura de Rexed comienza en el asta dorsal y termina en la ventral. Las primeras seis láminas son horizontales y aproximadamente paralelas entre sí; contienen neuronas de segundo orden y las que forman el núcleo propioespinal (capa III y IV; de este núcleo se desprenden axones que se dirigen a otros niveles supra- e infra-espinales.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La capa I, correspondiente a la previamente denominada capa de Waldeyer (Burke and Rudomin, 1977; Solodkin et al. 1998); contiene neuronas de segundo orden que reciben contactos sinápticos de fibras aferentes que conducen información nociceptiva. La lámina II corresponde a la sustancia gelatinosa de Rolando; contiene neuronas de segundo orden relacionadas con diferentes modalidades de la sensibilidad somática (presión, temperatura, etc). De las dendritas de las neuronas de las láminas I y II se desprenden pequeñas prolongaciones en forma de seta, llamadas gémulas o espinas. Las gémulas aumentan la superficie de las pequeñas neuronas de las capas I y II, con lo cual aumenta el número de posibles sinapsis. Además, las sinapsis que se establecen en el extremo libre de la gémula, redondeado y más ancho que el tallo que se une a la rama dendrítica, tiene una mayor eficacia para la transmisión sináptica.

En cuanto a sus neuronas y sus patrones de arborización dendrítica, la lámina III es muy similar a la lámina II pero el patrón de inervación aferente es diferente; las aferentes primarias de mayor diámetro se distribuyen en la lámina III.

En las neuronas de las láminas III y IV se originan fibras de asociación propioespinal que convergen sobre las láminas II y III de otros segmentos. Estas neuronas parecen recibir sinapsis de fibras provenientes de las columnas dorsales y del fascículo o haz corticoespinal (Muñoz-Martínez, 1998).

La lámina VII corresponde a la porción más ancha de la médula espinal. En ella se localizan las neuronas preganglionares y numerosas interneuronas. Entre el segmento 8 de la región cervical (C8) y los segmentos lumbares 3 y 4 (L3 y L4) se encuentra la columna de Clarke. La transmisión sináptica entre estas neuronas y las aferentes primarias es eficaz debido, en unos casos, al gran tamaño de los botones sinápticos; en

otros casos, cada fibra aferente establece múltiples contactos sinápticos con cada neurona.

Las láminas VIII y IX comprenden el asta anterior. La lámina VIII contiene interneuronas solamente, mientras que en la lámina IX se encuentran las motoneuronas, que son mucho más abundantes en los engrosamientos cervical y lumbar que en el resto de la médula. Las interneuronas de la lámina VIII también forman fascículos de asociación intraespinal que se extienden hasta cinco segmentos por encima o por debajo de las neuronas de origen. Algunas motoneuronas son las neuronas más grandes de la médula espinal.

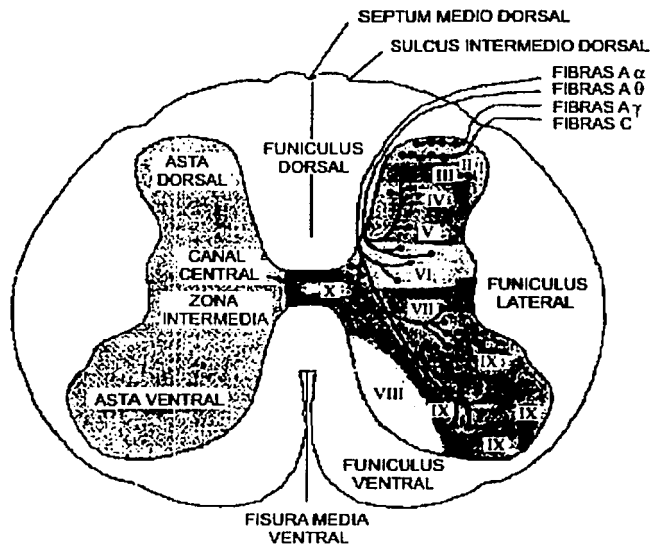


Figura 2. Esquema del asta ventral y dorsal, e inervación de motoneuronas, así como la distribución de cada una de ellas por segmentos (modificado de Zigmond, 1999).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C. TIPOS DE NEURONAS

Podría considerarse que en la médula espinal se alojan cuatro clases diferentes de neuronas, las cuales son: (según Solodkin et al. 1998)

Neuronas de segundo orden.

Las neuronas de esta clase reciben sinapsis de fibras aferentes y envían sus axones hacia estructuras supraespinales. El diámetro del cuerpo celular de las neuronas de segundo orden del asta posterior es menor del 15 μm en promedio. Hay, sin embargo, excepciones como algunas neuronas de la columna de Clarke, que llegan a medir hasta 30 μm de diámetro. Estas neuronas establecen contacto monosináptico con aferentes primarias que provienen de receptores musculares y miotendinosos localizados en músculos o tendones del tronco y de las extremidades, y envían sus axones hacia los glomérulos cerebelosos (Solodkin et al. 1998).

Neuronas preganglionares.

Las neuronas del sistema nervioso autónomo se encuentran en las astas laterales, dan lugar a axones amielínicos y, por lo tanto, son neuronas de baja velocidad de conducción cuyos axones salen de la médula espinal por las raíces ventrales.

Motoneuronas.

La excitación de los músculos esqueléticos es controlada directamente por el SNC a través de las llamadas motoneuronas. Estas neuronas se encuentran localizadas en el asta ventral de la médula espinal (excepto las que se localizan en el tallo cerebral e inervan los músculos del ojo, de la cara, de la faringe y de la laringe) y envían sus axones a través de las raíces ventrales. Cada músculo se encuentra inervado por un grupo de motoneuronas y cada motoneurona inerva un determinado número de fibras musculares.

Al conjunto formado por una motoneurona y las fibras musculares que inerva se le denomina unidad motora y su tamaño depende del número de fibras musculares inervadas (Hennemann et al. 1965; Burke and Rudomín, 1977; Coombs et al. 1955).

De acuerdo con las conexiones que establecen con las fibras musculares esqueléticas, existen tres clases de motoneuronas:

1) *Motoneuronas alfa (α)*

Debido a que las motoneuronas alfa han sido ampliamente estudiadas, se les considera como un prototipo neuronal (Sherrington, 1947; Burke and Rudomín, 1977; Solodkin et al. 1998). Esta clase de motoneuronas inervan exclusivamente a las fibras extrafusales de los músculos (no contenidas en el huso muscular). Son multipolares y de su cuerpo celular se originan el axón y cinco o seis troncos dendríticos que se dividen por dicotomía en varias ocasiones, lo que provoca que su árbol dendrítico sea de grandes proporciones. Se considera que casi el 90% de la superficie total de las motoneuronas corresponde al área del árbol dendrítico, mientras que el restante 10% corresponde al soma y al axón eferente (Solodkin et al. 1998).

Toda la superficie de las motoneuronas se encuentra cubierta por botones sinápticos, cuyo diámetro promedio es de aproximadamente 1 μm (Solodkin et al. 1998). Dado que el axón no recibe sinapsis, la zona más excitable de la motoneurona se localiza en la unión del soma con el axón, la cual se ha denominado como axónico (Solodkin et al. 1998). Tanto el cuerpo celular como los troncos dendríticos proximales y las dendritas distales no generan ni propagan potenciales de acción de manera activa. Así pues, los potenciales sinápticos generados en las dendritas, se propagan pasivamente (mediante electrotono) a través de la membrana dendrítica y somática hasta alcanzar el cono

axónico, en donde los potenciales sinápticos excitatorios e inhibitorios se suman algebraicamente (función de integración; Solodkin et al. 1998). Si la amplitud de uno o la suma de varios potenciales sinápticos excitatorios que coincidan en llegar al cono axónico, es de magnitud suficiente para alcanzar el umbral de activación de la motoneurona, se generará un potencial de acción que se propagará activamente a lo largo del axón eferente hasta alcanzar sus ramificaciones axonales (Solodkin et al. 1998), en donde activará los mecanismos de liberación del neurotransmisor de las terminales sinápticas (p. ej., la unión neuromuscular; Solodkin et al. 1998).

Las fibras aferentes que surgen de los receptores del huso muscular (aferentes Ia) localizados en los músculos establecen contactos sinápticos de índole excitatoria con varias motoneuronas alfa a la vez, las que a su vez inervan a las fibras extrafusales del mismo músculo (arco reflejo monosináptico). La relación funcional existente entre una motoneurona y las fibras musculares que ella inerva se denomina unidad motora (el tamaño de una unidad motora depende en gran medida de la cantidad de fibras musculares que sean inervadas por una motoneurona en particular. (Henneman et al. 1965).

2) *Motoneuronas gama* (γ).

Como en el caso de las motoneuronas alfa, las motoneuronas gama son excitadas sinápticamente por las fibras Ia que surgen de receptores del huso muscular que se localizan en el mismo músculo que las mismas motoneuronas inervan o en músculos sinergistas (Burke and Rudomín, 1977; Solodkin et al. 1998). Cuando las motoneuronas alfa son excitadas por las aferentes musculares Ia, las motoneuronas gama también se activan. Ahora bien, ambos tipos de motoneuronas son inhibidas, a través de

la mediación de una interneurona, cuando se activan las fibras aferentes provenientes de receptores tendinosos de Golgi (fibras Ib; Solodkin et al. 1998).

Por otra parte, cuando las motoneuronas gama son activadas, ejercen una acción sináptica excitadora sobre las fibras musculares intrafusales, las cuales se localizan dentro de los husos musculares (Burke and Rudomín, 1977; Solodkin et al. 1998). De esa manera, las motoneuronas gama realizan una función reguladora de la actividad del receptor del huso muscular. A este proceso regulador se le conoce con el nombre genérico de control eferente gamma. Este sistema de control se basa en que la activación de los husos musculares (por un estiramiento del músculo), por un lado produce la excitación de las motoneuronas alfa y la activación de las fibras musculares extrafusales, provocando la contracción muscular y una reducción de la longitud del músculo e inactivación del huso muscular. Esto es, cuando el músculo está generando la mayor cantidad de fuerza, justo en ese momento el huso muscular deja de ser sensible. Para evitar en lo posible que ello ocurra, por otro lado las motoneuronas gama también son activadas por las fibras aferentes Ia de tal modo que se excitan las fibras musculares intrafusales, manteniendo constante la respuesta del receptor del huso muscular, durante la contracción refleja del músculo (Burke and Rudomín, 1977; Solodkin et al. 1998). De esta manera, las motoneuronas gama y las aferentes del huso muscular forman un sistema recurrente positivo o autorregenerativo (retroalimentación o retroacción positiva), mientras que las aferentes de los órganos tendinosos de Golgi forman un asa recurrente negativa sobre ambos tipos de motoneuronas (Burke and Rudomín, 1977; Solodkin et al. 1998). En resumen, las motoneuronas gama excitan a las fibras musculares intrafusales, activando al receptor del huso muscular y éste, a través de las fibras Ia, excita de nuevo a ambos tipos de motoneuronas (alfa y gama). Por su parte, las motoneuronas alfa inducen

la contracción de las fibras musculares extrafusales, por lo cual se activan los receptores tendinosos de Golgi y, a través de las fibras Ib y las interneuronas inhibitorias Ib, se inhiben las motoneuronas alfa y gama, completándose el ciclo de la contracción. Sin embargo, la regulación de la actividad muscular no es tan simple debido a que diversos sistemas motores supraespinales convergen sobre ambos tipos de motoneuronas y sobre las interneuronas de las vías involucradas (Burke and Rudomin, 1977; Solodkin et al. 1998).

3. *Motoneuronas beta.*

Las motoneuronas beta (β) inervan tanto a las fibras musculares extrafusales como intrafusales (Solodkin et al. 1998). Debido a su escaso número y pequeño tamaño (lo que hace extremadamente difícil su localización espinal), aún no se ha podido determinar con precisión cuál es la proporción de motoneuronas beta, con respecto a las motoneuronas alfa, ni se ha podido establecer el número de fibras extrafusales que son inervadas por cada motoneurona beta (unidad motora). Tampoco se sabe si las motoneuronas beta pueden diferenciarse de las alfa por alguna cualidad particular que sea distinta al destino de sus terminaciones axónicas (Solodkin et al. 1998). Los datos disponibles sólo indican que la velocidad de conducción (70 m/s) de los axones beta es, en promedio, menor que la velocidad de conducción de las motoneuronas beta (90 m/s).

Debido a que los efectos producidos por este tipo de motoneuronas no pueden ser distinguidos fácilmente de los producidos por las otras motoneuronas, en ocasiones es preferible describir el efecto observado sin precisar el tipo de motoneurona que lo está produciendo. Esto último pone en entredicho la funcionalidad del concepto de coactivación alfa-gama en el control gama (o beta) de la contracción muscular (Solodkin et al. 1998).

Interneuronas y sus conexiones.

Las interneuronas espinales constituyen el grupo más numeroso de las neuronas de la médula espinal. Del total de botones sinápticos que convergen sobre las motoneuronas, aproximadamente el 80% proviene de interneuronas espinales. El término interneurona alude a que éstas se encuentran entre fibras aferentes y las motoneuronas, pero las interneuronas también reciben y establecen contactos sinápticos con neuronas de otros sistemas propioespinales o supraespinales. Desde el punto de vista funcional, existen dos clases de interneuronas: las excitatorias y las inhibitorias. A esta subdivisión quizá sea pertinente agregar a aquellas que despolarizan a las aferentes primarias para producir inhibición presináptica (Solodkin et al. 1998). El diámetro del cuerpo celular de las interneuronas es algo mayor en promedio que el de las neuronas de segundo orden.

Las conexiones de las interneuronas espinales con fibras aferentes y haces supraespinales por un lado, y con las motoneuronas por el otro, determinan la organización funcional motora de la médula espinal. Los patrones de dichas conexiones son extremadamente precisos y dan lugar al llamado principio de inervación recíproca. Inicialmente este concepto aludió al hecho de que cuando un músculo se contrae de manera refleja, los músculos antagonistas se relajan. Posteriormente se demostró que las fibras aferentes originadas en un músculo dado, hacen contacto monosináptico con las motoneuronas alfa que inervan el mismo músculo e inhiben, a través de una interneurona, a las motoneuronas de los músculos antagonistas de la misma articulación. En general, las vías que producen la excitación de motoneuronas extensoras, al mismo tiempo provocan la inhibición de músculos flexores ipsilaterales y viceversa (inhibición recíproca; Solodkin et al. 1998).

El principio de inervación recíproca está ligado al de coactivación alfa-gama pues

los efectores excitatorios o inhibitorios que se ejercen sobre las motoneuronas alfa, en una determinada situación, también se ejercen sobre las motoneuronas gama (Burke and Rudomín, 1977; Solodkin et al. 1998).

Las interneuronas espinales responden con mayor eficacia a la activación sináptica que las motoneuronas (Solodkin et al. 1998), lo cual está asociado a sus pequeñas dimensiones y, por lo tanto, con una impedancia de entrada relativamente grande con respecto a las motoneuronas (Burke and Rudomín, 1977; Solodkin et al. 1998).

1) *Interneuronas excitatorias.*

A pesar de que existe una muy escasa información en la literatura especializada sobre interneuronas cuya activación excite a otras neuronas propioespinales o supraespinales (por ejemplo: otras interneuronas o motoneuronas), se conoce que este tipo de interneuronas recibe predominantemente acciones sinápticas de fibras aferentes provenientes de receptores de la piel (cutáneos; LaBella and McCrea, 1990; Solodkin et al. 1998) y algunas de ellas, por ejemplo la interneurona excitadora Ib, la cual sólo puede ser activada durante la locomoción (Angel, et al. 1963), recibe influencias excitadoras de fibras aferentes provenientes de órganos tendinosos y de husos musculares (Quevedo, et al. 2000). En general, se considera que las interneuronas excitatorias tienen un papel preponderante en las relaciones funcionales de los sistemas sensoriales y motores de la médula espinal (Manjarrez, et al. 2000).

A. Interneuronas inhibitorias de la vía Ia.

Al ingresar a la médula espinal, las fibras aferentes Ia se ramifican profusamente en el núcleo intermedio y en el asta ventral, en donde realizan múltiples contactos sinápticos

con interneuronas y con motoneuronas, respectivamente (Solodkin et al. 1998). Una de las interneuronas con las que hacen contacto las fibras aferentes Ia, ejerce una acción inhibitoria sobre las motoneuronas que inervan músculos antagonistas. Tal acción depresora se denomina *inhibición recíproca*.

Una conexión interesante de estas neuronas es la que establecen con las neuronas de segundo orden, que dan origen al fascículo espinocerebeloso ventral. Así pues, estas neuronas no sólo regulan la actividad motora espinal sino que también influyen en la actividad de la vía neuronal que conduce información hacia el cerebelo, estructura esencial para la planeación, regulación y ejecución de diversos movimientos así como para el mantenimiento de la postura (Solodkin et al. 1998).

B. Interneuronas inhibitorias de la vía Ib.

Los axones aferentes Ib provenientes de los receptores tendinosos de Golgi (sensores de tensión muscular; Solodkin et al. 1998) se ramifican profusamente en la región intermedia de la médula espinal (entre las láminas 6 y 7 de Rexed, 1951) y contactan sinápticamente con interneuronas que ejercen acciones inhibitorias sobre las mismas motoneuronas que inervan al músculo del que se originan los axones aferentes (Solodkin et al. 1998). Esta acción, denominada inhibición no-recíproca o autogénica, es empleada por el sistema nervioso como una medida de prevención para evitar que los músculos se desgarran al intentar levantar un peso o una carga excesiva (Solodkin et al. 1998)

C. Interneuronas de Renshaw.

Antes de salir de la médula espinal, la fibra eferente de algunas motoneuronas

(predominantemente de unidades motoras pequeñas, Solodkin et al. 1998) proyecta una colateral axónica, que re-ingresa a la materia gris y hace contacto sináptico excitatorio con un tipo de interneurona que ha sido denominada como de Renshaw en honor al descubridor de este proceso recurrente (Solodkin et al. 1998). Estas neuronas al activarse producen una inhibición prolongada (alrededor de 35 ms, Solodkin et al. 1998) sobre las mismas motoneuronas que las excitan, proceso que se denomina inhibición recurrente o de Renshaw (Solodkin et al. 1998), cuya función primordial es la de limitar la frecuencia máxima de disparo de la motoneurona y en consecuencia evitar que las fibras musculares sean sobre-activadas (Solodkin et al. 1998). Por otro lado, las células de Renshaw inhiben a las interneuronas Ia, que son excitadas por las mismas aferentes musculares que convergen sobre las motoneuronas sujetas a inhibición recurrente. Así pues, al mismo tiempo que se limita el disparo de un grupo de motoneuronas homónimas por inhibición recurrente, también se limita la inhibición recíproca sobre las motoneuronas antagonistas (Solodkin et al. 1998)

II. CIRCUITOS NEURONALES

Como se puede establecer de la sección anterior, las neuronas que interactúan sinápticamente entre sí, conforman circuitos o redes neuronales que participan en la ejecución de una función determinada, por ejemplo, en la realización de un movimiento o en el mantenimiento de la postura. La respuesta de los circuitos o redes neuronales dependerá del estado de excitabilidad de cada una de las neuronas que los componen; de la eficacia de los contactos sinápticos que inciden sobre ellas; de la historia previa de actividad de un grupo neuronal determinado; de la influencia que ejercen otros centros o conglomerados neuronales sobre ellas; de las características del medio intra- y extra-

celular, etc. (Ninomiya, 1991). Sin embargo, existe una forma básica de respuesta de cada centro nervioso frente a la llegada de potenciales de acción por su vía aferente, la cual caracteriza su función (Ninomiya, 1991). De esta manera, al hablar de centros motores se involucra que su actividad modifica el estado funcional del aparato locomotor; de centros vegetativos si la actividad controlada tiene como efector a las vísceras o glándulas que modifican o regulan las constantes del medio interno; de centros sensoriales a aquellos que están vinculados directamente con las vías sensitivas e intervienen en la manipulación de la información aferente que proviene de receptores periféricos, etc (Ninomiya, 1991).

Sin embargo, a pesar de tal variabilidad, existe un conjunto de características generales en el funcionamiento del SNC, que le confieren una unidad de acción y adaptabilidad para controlar las variables que mantienen al individuo como entidad independiente del medio exterior.

De manera genérica, los circuitos neuronales, vías nerviosas y conglomerados neuronales del sistema somático, relacionan al individuo con su medio ambiente. Por lo tanto, las variaciones del medio ambiente son percibidas por los receptores y la información que de ello deriva se conduce como potenciales de acción por las fibras nerviosas, hacia los sitios de integración de las aferencias en el SNC (ya sea directamente a través de las mismas fibras aferentes o mediante relevos internunciales que constituyen vías o fascículos propioespinales o vías ascendentes). Posteriormente en distintas estructuras del SNC se integra la información sensorial y la respuesta o comando de ejecución de una función determinada es llevada a los sistemas efectores mediante vías eferentes o sistemas descendentes (Ninomiya, 1991).

1) *Vías Ascendentes.*

Las principales vías ascendentes son: 1) vía espino-tálamo-cortical que asciende

por el cordón antero-lateral de la médula espinal y conduce las modalidades sensoriales del tacto grueso, dolor y temperatura; 2) vía espino-bulbo-tálamo-cortical, cuyas fibras ascienden por la médula espinal a través de los cordones posteriores y conduce la información concerniente a las modalidades sensoriales de tacto fino, presión, vibración y sensibilidad profunda y 3) fascículos espinocerebelosos dorsal y ventral (fascículos de Flechsig y de Gowers, respectivamente), que ascienden por los cordones laterales de la médula espinal y conducen lo relacionado con sensibilidad profunda (Noback y Demarest, 1980).

Existen otros fascículos ascendentes que terminan en algunas estructuras del tallo cerebral, tales como los fascículos espino-olivar, espino-tectal, espino-reticular y espino bulbar, así como de las fibras intersegmentarias que forman parte de sistemas reflejos de diferentes grados de complejidad funcional. (Ninomiya, 1991).

2) *Vías Descendentes.*

Las principales vías descendentes que llegan a la médula espinal, provienen de diferentes regiones de la corteza cerebral. Una es la vía piramidal o motora voluntaria y la otra es la vía sinergista o extrapiramidal principal, que activa las neuronas del núcleo rojo en el tallo cerebral y sus axones descienden hacia la médula espinal por el fascículo rubro-espinal. La mayor parte de las fibras axones que conforman la vía piramidal se cruzan a nivel del bulbo, presentando un abultamiento en forma de pirámide, de donde viene dicho nombre y descienden contralateralmente por los fascículos dorsolaterales de la médula espinal. Otras vías descendentes a la médula espinal son los fascículos extrapiramidales rubro-espinales, vestibulo-espinales, olivo-espinales, tecto-espinales y la cintilla longitudinal media. Los impulsos que provienen del cuerpo estriado, principalmente de los núcleos caudado y lenticular, son conducidos por fibras que hacen sinapsis en las células

de la *substantia nigra* y del núcleo rojo del mesencéfalo y descienden a la médula espinal por los fascículos nigro-espinal y rubro-espinal, respectivamente (Noback y Demarest, 1980). Las fibras de las vías piramidales se originan en las células gigantes de Betz (área motora o área 4 de Brodmann) y en el área motora del giro precentral y descienden por los fascículos córtico-espinal cruzado, córtico-espinal directo o anterior y córtico-espinal ventrolateral de Barnes (Noback y Demarest, 1980).

Todas las vías descendentes que viajan por la médula espinal, realizan contactos sinápticos con interneuronas de asociación en la base de las astas anteriores y con grupos de motoneuronas en el asta anterior o ventral.

III. REFLEJOS

Puesto que la neurona constituye la unidad anatómica básica del SNC, el reflejo se ha considerado como la unidad funcional (Ninomiya, 1991). La respuesta refleja resulta de la excitación de una vía sensitiva y se presenta en la forma de una actividad coordinada motora o secretora (Ninomiya, 1991). Tal respuesta aparece como "un reflejo" de la excitación (que se refleja y vuelve), luego de haber pasado por el SNC (Ninomiya, 1991).

Charles Bell en 1811 y Magendie en 1822 son prácticamente los iniciadores del estudio de la actividad refleja, sin embargo, es hasta las observaciones de Setschenov en 1863, que se vislumbra al reflejo como causante de un movimiento estereotipado. Posteriormente, Hall en 1833 denominó como reflejo al movimiento generado como respuesta a un caso de emergencia. Posteriormente Sherrington, así como Ramón y Cajal (1888), establecen que tanto la neurona como el reflejo son unidades anatómicas y funcionales del SNC.

Las respuestas reflejas mantienen una serie de propiedades que las caracterizan. Los procedimientos experimentales utilizados para discernir tales propiedades han sido empleados en una gran cantidad de ocasiones para develar las características de una gran variedad de respuestas de grupos neuronales en el SNC. Algunas de esas propiedades se describen a continuación: (según Ninomiya, 1991)

- a) El umbral de generación del reflejo depende en gran medida de las características del estímulo aplicado y del grado de excitabilidad del SNC.
- b) Por encima del umbral, la graduación del estímulo no es seguida por una respuesta de igual proporción.
- c) Si el estímulo es repetitivo, la respuesta no necesariamente sigue el ritmo impuesto o lo hace en forma parcial y limitada.
- d) Los estímulos únicos en un nervio sensitivo son poco adecuados para una respuesta refleja. En general, es necesaria una suma temporal de estímulos.
- e) Después de una respuesta refleja se puede observar un periodo de disminución de la excitabilidad.
- f) La respuesta refleja, que involucra varios grupos de músculos, está organizada espacio-temporalmente y de manera coordinada para la consecución de un objetivo preciso.
- g) Cuando el estímulo aumenta de intensidad, la respuesta refleja se propaga a otros grupos musculares, no en forma desordenada sino siguiendo un patrón más o menos definido. La irradiación es por lo general confinada a regiones o grupos musculares que cooperarán con el objetivo de la respuesta.

Para su estudio, los reflejos espinales se han clasificado de muy diversas maneras, entre ellas se encuentran las siguientes:

A) De acuerdo al tipo de estímulo que lo provoque:

Reflejos exteroceptivos. Asociados a la activación de un receptor localizado en la cubierta del cuerpo (por ejemplo: el reflejo derivado de un estímulo punzante).

Reflejos interoceptivos. El estímulo es originado en el interior del tubo digestivo, el receptor se encuentra en la capa que reviste ese conducto y el estímulo es habitualmente químico (por ejemplo: ajustes de secreciones por las características del contenido digestivo).

Reflejos Propioceptivos. Se asocian a la activación de receptores localizados dentro de los tejidos en que se involucra la contracción muscular (por ejemplo: reflejos de postura asociados a la estimulación de receptores articulares o vestibulares; Cingolani and Houssay, 2000; Ninomiya, 1991; Perot, Almeida y Silveira, 1994).

B) Los reflejos espinales también pueden agruparse de acuerdo al número de sinapsis o neuronas involucradas en la generación de la respuesta.

Reflejos Monosinápticos. Este tipo de reflejos se genera por la activación de tan sólo una sinapsis con la motoneurona. Se caracterizan por ser extensores.

Reflejos Polisinápticos. Estos reflejos se manifiestan por la activación de dos o más sinapsis interpuestas en la vía neuronal que excita a las motoneuronas espinales. La distribución de la descarga refleja que se provoca por la estimulación de fibras de los grupos II, III y IV de nervios musculares o de fibras de los grupos alfa, delta ó C de nervios cutáneos, es muy difusa, de manera que tales descargas pueden detectarse en la fibra motora que inervan muchos músculos de las extremidades, sin embargo las señales multisinápticas no son de actividad indiscriminada y la mayoría es localizada en músculos flexores (Ruch and Patton, 1965; Cingolani and Houssay, 2000).

1) Registro de la actividad refleja espinal.

La respuesta de las motoneuronas a un estímulo periférico puede registrarse de muy diversas formas, siendo la activación del reflejo rotuliano o patelar en el humano la forma más conocida y que consiste en la aplicación de un pequeño golpe con un martillo pequeño sobre la rótula de la rodilla. En condiciones experimentales (no clínicas), es factible provocar la respuesta refleja de la médula espinal al aplicar pulsos eléctricos de intensidad y duración graduados a una raíz dorsal o un nervio motor periférico de animales de laboratorio y registrar, mediante procedimientos electrofisiológicos apropiados, en una raíz ventral o en el mismo nervio del animal (Ruch, 1965). De esta manera, la actividad refleja espinal ha sido evaluada en una gran variedad de condiciones experimentales, destacando aquellas concernientes a la caracterización de la transmisión sináptica central (Eccles, 1976) y/o en la locomoción ficticia (Pearson, 2000).

Otra manera de registrar la actividad refleja de los animales, incluyendo al hombre, es el registro del reflejo de Hoffmann o reflejo H. Este tipo de registro electrofisiológico, no invasivo, se emplea cada vez con mayor frecuencia en la clínica para estudiar la excitabilidad de las vías reflejas espinales. Este procedimiento fue desarrollado por Hoffmann en 1918, como una variación experimental del reflejo miotático, en el que un estiramiento súbito de un músculo provoca la activación de los receptores del huso muscular y en consecuencia de las fibras aferentes Ia, quienes ejercen acciones sinápticas excitatorias sobre las motoneuronas, localizadas en el cuerno ventral de la médula espinal, la respuesta de éstas genera la acción refleja. En el caso del reflejo H, se aprovecha el bajo umbral eléctrico de las fibras Ia, para activarlas mediante pulsos de estimulación de intensidad relativamente baja, aplicados en la superficie de la piel (cerca

del nervio ciático), lo que provoca una respuesta refleja en el músculo, la cual se puede registrar electromiográficamente (con electrodos de aguja muy finos insertados en el músculo bajo análisis) .

En el registro electromiográfico se observa en primer lugar una onda de latencia corta, llamada onda M que representa la actividad directa del músculo provocada por la activación de las fibras eferentes que hacen contacto con él. En la generación de tal potencial no participa ningún circuito espinal. Posteriormente a la onda M se presenta una segunda deflexión, de mayor latencia, que corresponde al reflejo H, la que representa la actividad muscular refleja provocada por la activación del circuito reflejo espinal conformado por las fibras aferentes – motoneuronas - fibras eferentes - fibras musculares activadas (Hoffmann, 1918, 1922; Magladery and McDougal, 1950). El reflejo H es considerado como un reflejo monosináptico y es muy utilizado en la clínica para evaluar, de manera indirecta, la excitabilidad refleja de las motoneuronas.

Se ha reportado que la amplitud del reflejo H decrece cuando éste se provoca repetidamente (Crone and Nielsen, 1989, Hultborn et al. 1996). Tal depresión podría ser causada por la inhibición presináptica de las vías neuronales que efectúan contacto sináptico con las motoneuronas de la vía refleja. Floeter y Kohn (1997), mostraron que la depresión del reflejo H es mayor cuando éste es provocado por estímulos de baja intensidad que cuando se utilizan intensidades altas. Una de las características más notables del reflejo H, al igual que el reflejo monosináptico registrado experimentalmente en las raíces ventrales es la de que fluctúa considerablemente de amplitud de intento a intento, esto es, presenta una gran variabilidad en su amplitud y área en el tiempo (Somjen and Heath, 1966; Hunt 1955; Rudomín and Dutton 1968; Gossard et al. 1999).

Hultborn y cols. (1987 A y B) asocian la variabilidad en la amplitud del reflejo H a cambios en la actividad de interneuronas espinales que efectúan contactos sinápticos con

las motoneuronas (cuyos axones inervan a los músculos). Estos autores proponen que las interneuronas reciben acciones excitatorias o inhibitorias de vías descendentes, y cuya actividad provoca las fluctuaciones en la amplitud del reflejo H.

El reflejo H tiene las siguientes características:

- 1) La intensidad de la estimulación necesaria para generarlo (umbral de activación) es inferior al que se requiere para provocar la onda M.
- 2) La latencia y la forma de la onda tienden a ser constantes ante intensidades fijas de estimulación
- 3) A intensidades bajas de estimulación, la amplitud del reflejo H por lo general excede a la de la onda M, y su amplitud media puede llegar a ser entre 50 o 100 % mayor que la de la onda M.
- 4) Es factible provocar el reflejo H en los músculos de la pantorrilla y carpo radial flexor después del primer año de vida.

IV. LESIONES

Como se puede apreciar en las secciones previas, las diferentes funciones sensorio-motoras que realiza la médula espinal son el resultado de una estrecha y compleja interrelación anatómica-funcional que guardan cada uno de los elementos neuronales que la constituyen. Es así que, cuando la funcionalidad de alguno o varios de los componentes neuronales de la médula espinal se ve afectada por circunstancias patológicas o accidentales, ello puede alterar notoriamente la estructura funcional de la médula espinal. Cuando se lesiona el soma de las motoneuronas sobreviene una enfermedad neurogénica, si se lesiona el axón se da lugar a las neuropatías, mientras que la lesión del músculo da lugar a las miopatías, algunas de estas lesiones se acompañan

de debilidades musculares y en algunos casos de la atrofia del mismo músculo (Cingolani and Houssay, 2000).

Por lo general, una neurona como cualquier célula reacciona de muy diversas maneras a las lesiones producidas ya sea por la sección de una de sus estructuras; por aplastamiento, por la presencia de sustancias tóxicas o por la privación de la inervación sináptica. La célula neuronal responde en su totalidad debido a que el trauma actúa como un estímulo potente, y esta respuesta se lleva a cabo a través de una serie de mecanismos que conducen a la reparación de la célula.

Uno de los grandes desafíos que se tienen en la investigación de los procesos de regeneración en el cordón espinal es el de encontrar la manera de estimular el crecimiento axonal y modificar las propiedades de la trayectoria de las vías nerviosas del cordón espinal dañado, a fin de reestablecer las conexiones sinápticas entre los conjuntos neuronales de los segmentos aislados del cordón espinal (Bjorklund, 1994).

Por muchas décadas la incapacidad derivada de las lesiones espinales fue aceptada casi como "una ley de la naturaleza"; las lesiones del cordón espinal se consideraron como "irrevocables" (Ramón y Cajal, 1928). Sin embargo, tal situación ha empezado a cambiar en la actualidad, ya que se han desarrollado paulatina y recientemente herramientas y procedimientos que empiezan a rendir frutos en los campos de la investigación y de la clínica. Todo este desarrollo ha conducido a una rápida expansión del campo, la que se ve reflejada en un enorme número de publicaciones sobre temas relacionados con el trauma espinal y con los mecanismos de degeneración, regeneración, supervivencia y plasticidad neuronal (Kalb and Strittmatter, 2000).

Se han implementado múltiples procedimientos o modelos experimentales para inducir, diagnosticar y/o tratar lesiones espinales en animales de laboratorio, las cuales sean muy semejantes a las que podrían provocarse en el humano, ya sea en accidentes

(laborales, de transporte y/o deportivo, etc.). Sin embargo, tales procedimientos deben ser confiables, uniformes y reproducibles, para que posteriormente puedan ser aplicados en la clínica (Beattie et al. 1988) y deben contemplar la evaluación de los posibles mecanismos y características del daño espinal, así como la recuperación del mismo.

Clinicamente y de manera tradicional, las lesiones espinales han sido clasificadas de acuerdo a: 1) el nivel segmental donde se presenta la lesión; 2) a partir de la evidencia clínica relativa a la ausencia de funciones motoras y/o sensoriales, estableciendo si es una lesión completa o incompleta de la médula espinal y 3) a partir del proceso que condujo a la lesión espinal (Bohlman and Ducker, 1992; Ditunno, 1992).

La columna vertebral recibe la influencia de cuatro vectores de fuerza, los cuales son: flexión, extensión, rotación y compresión (Schwab and Bartholdi. 1996). En la mayoría de los casos, la lesión de la columna vertebral ocurre por una combinación de las fuerzas actuantes, por ejemplo, la combinación de rotación y flexión o extensión. Tales lesiones son particularmente frecuentes en la región cervical (Ikata et al. 1989; Sybert, 1990). El patrón específico de la patología de la médula espinal resulta de los diferentes mecanismos o fuerzas, además del nivel anatómico específico en el cual se aplican las mismas. Las fracturas de los cuerpos vertebrales o la luxación de las vértebras conducen a la concusión, contusión o laceración de la médula espinal. En el sentido más estricto del término, una concusión es un estado de depresión funcional transitorio de la médula sin daños anatómicos, mientras que la contusión involucra cambios anatómicos definitivos y la probabilidad de déficit permanente (Schwab and Bartholdi, 1996).

La mayoría de las lesiones en la médula espinal humana resultan de contusión aguda debido al desplazamiento del hueso o del disco de las vértebras durante una dislocación por fractura o fractura por impacto de la columna vertebral (Bohlman and Ducker, 1992; Hughes, 1974; Kakulas and Taylor, 1992). Sin embargo, en algunos casos

asociados a traumas severos como marcadas dislocaciones por fractura producidos por cuerpos extraños que atraviesan el canal vertebral, resultan en laceración o sección de la médula espinal. En general, las lesiones de la médula espinal son más comunes en la región cervical y en la unión torácico-lumbar (Schwab and Bartholdi. 1996).

La sección espinal es común en la clínica humana, como consecuencia de accidentes y agresiones. Al seccionar la médula espinal se pierden transitoriamente los reflejos segmentarios ("choque espinal") y el tono muscular, tanto del músculo estriado como del liso. La duración del choque espinal es diferente en las distintas especies animales y está relacionada con el grado de desarrollo de los hemisferios cerebrales; por ejemplo, el choque espinal dura unos minutos en la rana y varios meses en el humano. En este último, el choque espinal se caracteriza principalmente por parálisis flácida, arreflexia, incapacidad para evacuar tanto la vejiga como el colon e hipotensión (Bach y Rita, 1993).

El interés por el estudio, en modelos animales, de las consecuencias funcionales de las lesiones espinales viene desde los tiempos de Galeno (hacia el siglo II d. C.), quien seccionó el cordón espinal de monos, aportando datos tempranos sobre este tipo de lesiones (Siegel, 1973). La época moderna de estudios sobre las lesiones de cordón espinal, comenzó hace aproximadamente 90 años, cuando Allen en 1911, introdujo un procedimiento experimental que permitía reproducir las observaciones de un animal a otro. El procedimiento consistía en soltar un peso conocido sobre la superficie expuesta del cordón espinal torácico. La técnica de Allen llegó a ser conocida como el modelo de lesión por contusión y desde entonces ha sido empleada en numerosas investigaciones para provocar lesiones espinales en diversos tipos de animales. Puesto que este modelo permite crear daños leves y moderados en la médula espinal de animales, se le ha considerado que simula fielmente una situación clínico-patológica.

Los modelos de lesión por contusión en roedores y gatos han resultado útiles en estudios clínicos. Así se han probado numerosas sustancias experimentales en modelos de daño espinal, como es el caso de la metilprednisolona, el cual se emplea en la terapia actual para daño de cordón espinal agudo (Braughler et al. 1987). A pesar de que esta sustancia ha mostrado un leve efecto protector, por lo que existe en la actualidad una intensa controversia sobre los beneficios de su aplicación, es ampliamente utilizada en la práctica clínica. Otra de las sustancias, es el naloxon que previene el desarrollo post-traumático e isquemia y facilita la recuperación sensorio-motora en gatos después del daño por contusión del cordón espinal (Schwab and Bartholdi. 1996).

ANTECEDENTES

El uso de técnicas no invasivas, como el registro del reflejo de Hoffman para el análisis de las respuestas neurofisiológicas en el humano, ha sido fundamental para el avance en la comprensión, diagnosis y tratamiento de una gran variedad de enfermedades neurológicas (Kushnir, et al. 2001; Novikova, 1985; Danner, et al. 1981; Oepen and Hillesheimer, 1981; Higashi, et al. 2001; Kushnir, et al. 2001; Gordon and Wilbourn, 2001; Meunier, et al. 2000; Delwaide, et al., 2000; Kuruoglu and Oh, 1994), psiquiátricas (Goode, et al. 1979), metabólicas (Riihima, et al. 2001; Mansouri, et al. 2001; Kolev and Milanov, 2000; Mazzini, et al. 1997; Lai, et al. 1997), infecciosas (Bhaskar, et al. 1997; Prakash, et al. 1996), como de aquellas derivadas de accidentes por caídas, automovilísticos, o deportivos (Van-Beek, 1986; Little and Halar, 1985; Knikou and Conway, 2001). Asimismo, debido a que el registro del reflejo H es considerado como un índice de la excitabilidad de las motoneuronas espinales, ello ha permitido el estudio experimental de la función espinal en diversas condiciones, ya sea en reposo (Dimitrijevic, et al. 1978; Guissard, et al. 2001; Handcock, et al. 2001; Goulart, et al. 2000; Gregory et al. 1998), durante la ejecución de un movimiento determinado (Sullivan, 1980; Trimble and Koceja, 2001; Manca, et al. 1998) o durante la locomoción (Trimble, et al 2001; Chen, et al. 2001; Zehr, et al. 2001; Hiraoka, 2001; Schneider, et al. 2000; Andersen and Sinkjaer, 1999). Particularmente, el registro del reflejo H ha probado su enorme utilidad en el desarrollo de procedimientos de rehabilitación, experimentales y/o clínicos, para reducir o mitigar las alteraciones provocadas por lesiones espinales, tanto en el humano (Allison and Abraham, 2001; Dishman and Bulbulian, 2001; Orsnes, et al. 2001; Remy-Neris, et al. 2000; Funase and Miles, 1999; Qiao, et al. 1997; Simpson, et al. 1997; Raffaéle et al. 1992) como en animales experimentales (Stanley, 1981; Chen, et al. 2002; Chen, et al. 2001; Lu, et al.

2001; Cliffer, et al. 1998; Skinner, et al. 1997; Skinner, et al. 1996; Perot and Almeida-Silveira, 1994; Meinck, 1976).

Sin embargo, los resultados obtenidos sobre los efectos que producen las lesiones espinales sobre la respuesta refleja (monosináptica y H) de la médula espinal muestran diversas inconsistencias experimentales entre sí, lo que en algunas ocasiones podrían cuestionar la validez de las mismas. Lo anterior podría deberse a varias causas, una de ellas está relacionada con el tipo de lesión que se infringe a la médula espinal, esto es, por compresión o por sección parcial o total (afectando a determinados tractos o vías supra-, o propio-espinales), así como del nivel espinal en donde ésta ocurra (cervical, torácico o lumbar).

Hultborn y Malmsten en 1983 mostraron en el gato que la hemisección lateral de la médula espinal, en niveles torácicos bajos (T12) o lumbares altos (L2), provoca un incremento significativo en la amplitud de los reflejos monosinápticos y polisinápticos (hiperreflexia), registrados en raíces ventrales ipsilaterales a la lesión espinal y generados por la estimulación de nervios motores y sensoriales, respectivamente, en comparación con los reflejos generados en raíces ventrales del lado contralateral de la lesión. Tal efecto fue observado en los animales lesionados entre 2 y 515 días post-lesión. Sin embargo, en el mismo estudio los autores observaron que los animales lesionados presentaban respuestas conductuales motoras que eran totalmente diferentes a lo que se hubiese esperado en animales con hiperreflexia. Esto es, entre el primer y segundo día post-lesión los animales mostraron parálisis flácida del miembro localizado en el mismo lado (ipsilateral) que la lesión espinal. Después de 2 o 3 días, los animales lesionados comenzaban a utilizar el miembro del lado lesionado en algunos movimientos durante la marcha, pero en períodos de tiempo muy breves y mostrando una notoria incapacidad para realizar movimientos apropiados (por lo general caminaban sobre la punta de los

dedos de la pata) y ésta no era empleada para la propulsión del miembro. A partir del 4 al 21 día post-lesión los animales adquirían gradualmente mayor destreza locomotora y después de la segunda semana los gatos caminaban de manera correcta. Posteriormente, entre la tercera y cuarta semana post-lesión los animales ya podían correr, saltar y escalar. A partir del segundo mes, los gatos manifestaban una considerable mejoría en su desempeño locomotor. Hultborn y Malmsten (1983) consideraron que sus observaciones conductuales resultaban de "conexiones indirectas", provenientes del lado contralateral no lesionado, que de alguna manera prevenían los síntomas de hiperreflexia o espasticidad, observados en los reflejos de raíz ventral registrados en el lado ipsilateral de la lesión. Resultados muy similares a los anteriormente descritos fueron reportados en la rata por Malmsten (1983).

Por otra parte, Thompson y colaboradores (1992) en la rata mostraron que una semana después de la contusión medular (al nivel torácico medio), la excitabilidad refleja lumbar (determinada ésta a partir de la pendiente obtenida en la relación reflejo H/onda M, registrados en músculos plantares de la pata del animal, y el porcentaje de la salva aferente) se encontraba significativamente disminuida con respecto a los animales control. A los 28 y 60 días post-lesión, estos autores observaron la recuperación de las respuestas reflejas. Thompson y colaboradores (1992) consideraron que la reducción inicial de la excitabilidad refleja lumbar era el resultado de una marcada alteración en la actividad "de fondo" de las entradas inhibitorias y excitatorias que inciden sobre las motoneuronas espinales, como consecuencia de la contusión espinal.

Debido a lo anterior, cabría suponer que la notable incongruencia entre las observaciones realizadas en los estudios señalados, podría deberse a que éstos fueron realizados en distintas especies de animales y con protocolos de investigación diferentes. Llama la atención que el análisis de las respuestas reflejas, de raíz ventral y H, muestren

resultados completamente distintos entre sí, por lo que se dificulta la apropiada interpretación de los mismos. Es por ello que en el presente trabajo de tesis se plantea el registro de los reflejos monosináptico y H de manera simultánea en la rata, lo cual permitiría determinar en forma más apropiada el efecto que generan las lesiones espinales sobre las respuestas reflejas de la médula espinal.

PROBLEMA

¿Cuáles serán las posibles alteraciones que produce una contusión medular a nivel de la octava vértebra torácica sobre la excitabilidad refleja de las motoneuronas espinales?

Puesto que es ampliamente aceptado que los reflejos monosináptico y H son índices adecuados de la excitabilidad de las motoneuronas espinales, que inervan un músculo en particular de las extremidades, en el presente estudio se propone la siguiente:

HIPÓTESIS:

La contusión espinal a nivel torácico producirá alteraciones de magnitud similar sobre la amplitud de los reflejos monosináptico y H, registrados en paralelo en la rata.

OBJETIVO GENERAL

Establecer las posibles alteraciones producidas por la lesión por contusión de la médula espinal, a nivel torácico, sobre la amplitud del reflejo monosináptico y el reflejo H, registrados simultáneamente en la rata.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Establecer el procedimiento experimental para producir la lesión por contusión del 8º segmento de la médula espinal torácica de la rata.
- 2) Determinar algunos parámetros conductuales motores (actividad motora, enderezamiento postural y extensión de los dedos de las patas) en lotes de animales control o con lesión espinal, en periodos de tiempo post-lesión relativamente breves (3 y 10 días).

- 3) Registrar de manera simultánea, las respuestas electroneurográficas (potencial de acción compuesto y reflejo monosináptico) en el nervio tibial y electromiográficas (onda M y reflejo H) en los músculos plantares producidos por la estimulación del nervio ciático de ratas control y con contusión espinal.**
- 4) Establecer los efectos de la contusión espinal, a nivel torácico, sobre la amplitud del reflejo monosináptico y el reflejo H de ratas control y con lesión medular (al tercer y al décimo días posteriores a la lesión).**
- 5) Implementar técnicas histológicas que permitan determinar las áreas de la médula espinal torácica dañadas por la contusión experimental.**

METODOLOGÍA.

Procedimientos generales.

Las observaciones experimentales que comprenden este estudio fueron realizadas en lotes de ratas macho adultas de cepa Wistar, con un peso corporal entre 200 y 250 g. Los animales fueron mantenidos en un cuarto acondicionado ex profeso para ello en el laboratorio 11 del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV IPN, a cargo del Dr. Ismael Jiménez E., bajo condiciones constantes de temperatura y humedad y con periodos de luz-oscuridad constantes (12/12 hrs.). También tuvieron libre acceso a agua y alimento. Se manejaron tres grupos de animales: un grupo control (no lesionado; n=6), constituido por ratas machos íntegras, a las que únicamente se les analizó la conducta motora y los reflejos monosináptico y H. También se emplearon dos grupos experimentales (A y B) a los que se les analizó la conducta motora y los reflejos espinales: antes, 3 días (grupo A; n=6) y 10 días (grupo B; n=6) después de que se les practicara una contusión a nivel torácico de la médula espinal.

Contusión espinal.

En su momento, cada una de las ratas de los grupos experimentales A y B fueron anestesiadas mediante la aplicación intraperitoneal de hidrato de cloral (400 mg/kg de peso corporal).

Se montó al animal en un aparato estereotáxico de Horsley y Clark (para mantener fija la cabeza del animal) y se ataron firmemente las extremidades a la mesa de disección, ello se hizo para mantener inmóvil al animal. Inmediatamente después se procedió a exponer una parte de la octava vértebra torácica, de tal modo que hubiese el espacio suficiente para hacer una pequeña laminectomía, de aproximadamente 5 mm de diámetro,

para exponer la superficie de la médula espinal y por ahí realizar la contusión espinal.

La lesión por contusión se realizó mediante la técnica desarrollada por Wrathall, et al. (1985), la cual consiste en dejar caer desde una altura de 10 cm, a través de un tubo de acrílico transparente (colocado verticalmente), una barra metálica ("impactador") con los bordes redondeados sobre un embolo pequeño colocado sobre la superficie expuesta de la médula espinal. El "impactador" se deja por 2 minutos sobre la médula y se retira. Después de realizar este procedimiento, se vuelven a colocar en su sitio a los tejidos separados (músculos y tejido conectivo) y se cose la piel con sutura absorbible. Finalmente, se espolvorea penicilina (600 000 U) en el área de la lesión para evitar infecciones bacterianas. Posteriormente, se colocan a los animales lesionados en cajas de acrílico individuales y a partir de ese momento, todos los días se les revisaba sus condiciones físicas generales y se les inducía manualmente la evacuación de la orina y los excrementos.

Determinación de las respuestas motoras.

Para evaluar las respuestas motoras de los animales lesionados se utilizaron las pautas conductuales consideradas por Gale et al. (1985). La evaluación motora fue realizada antes (control) de la lesión medular y al 3er. y 10o. día post-lesión. Las pautas motoras analizadas fueron evaluadas otorgando una calificación cualitativa, según el grado de desempeño logrado por los animales (Tabla 1).

Para evaluar el déficit de las extremidades traseras durante la marcha (locomoción), los animales fueron colocados sobre la superficie de una mesa y se observaba el desempeño motor de cada extremidad trasera al realizar algún movimiento o paso (Tabla 1). Para la evaluación de la extensión de la pata trasera de los animales,

éstos fueron tomados por el cuerpo y levantados, provocando con esto que las piernas y patas de las ratas quedaran colgando libremente y de esa manera determinar el reflejo de estiramiento de los dedos de las patas posteriores. Por último, y para evaluar la capacidad para enderezarse de las ratas, éstas fueron colocadas sobre su dorso en una mesa, observando el rodamiento del animal y su intento por incorporarse (Tabla 1).

TABLA 1. PARÁMETROS DE LAS RESPUESTAS MOTORAS

LOCOMOCIÓN	EXTENSIÓN DE LA PATA	ENDEREZAMIENTO
0% Sin movimiento de los miembros	0% No hay extensión de las patas	0% No hay intentos de enderezamiento
20% Movimiento de miembros posteriores apenas perceptible	50% Ligera extensión de las patas	50% Intentos débiles de enderezamiento en la dirección de rodamiento
40% Movimiento frecuente y/o vigoroso de miembros posteriores	100% Extensión normal completa de las patas	100% Enderezamiento normal en contra de la dirección del rodamiento
60% El animal soporta el peso corporal y puede desplazarse uno o dos pasos		
80% El animal camina con déficit leve		
100% Desplazamiento normal		

Registro de la actividad refleja.

La fase experimental de registro fue realizada *in vivo*, por lo cual los animales control y lesionados (a los 3 y 10 días post-lesión) fueron anestesiados con una aplicación

intraperitoneal de ketamina (150 mg/kg de peso). El nivel de la anestesia se mantuvo constante a lo largo del experimento mediante la administración de la mitad de la dosis inicial de anestesia cada hora. Se seleccionó la ketamina, porque este anestésico provoca una mínima depresión del reflejo monosináptico (Lodge and Anis, 1984; Tang and Schroeder, 1973).

La rata fue sujeta a una tabla de corcho por medio de alfileres inoxidables insertados en las extremidades superiores, mientras que las posteriores fueron sujetadas con cinta adhesiva para evitar en lo posible movimientos bruscos del animal.

La identificación y disección del nervio plantar de la extremidad inferior izquierda de la rata se efectuó siguiendo las indicaciones anatómicas de Popesko (1992), dejando el nervio *in situ*, mientras que el resto de los nervios fueron seccionados distalmente. La disección de los nervios se hizo tratando de dejar intacta en lo posible la integridad de los vasos sanguíneos y del tejido muscular de la pata del animal.

Para provocar la respuesta refleja, se colocó un par de electrodos de plata en forma de gancho en el nervio tibial, a través de los cuales se hicieron pasar pulsos únicos de voltaje, de intensidad graduada, cada 8 segundos producidos por un generador Digitimer (modelo D 4030).

La actividad electroneurográfica del nervio plantar (potencial de acción compuesto (PAC) y reflejo monosináptico (RMS); (Fig. 3) fue registrada a través de otro par de electrodos de gancho colocados en el nervio plantar, los cuales se conectaron a un preamplificador Grass modelo P511, desde el cual la señal electrofisiológica registrada fue enviada a través de una interfase Sony digital hacia un osciloscopio digital (Gould DSO 1624), a un sistema de video grabación y a una computadora, en donde fue almacenada para su posterior análisis.

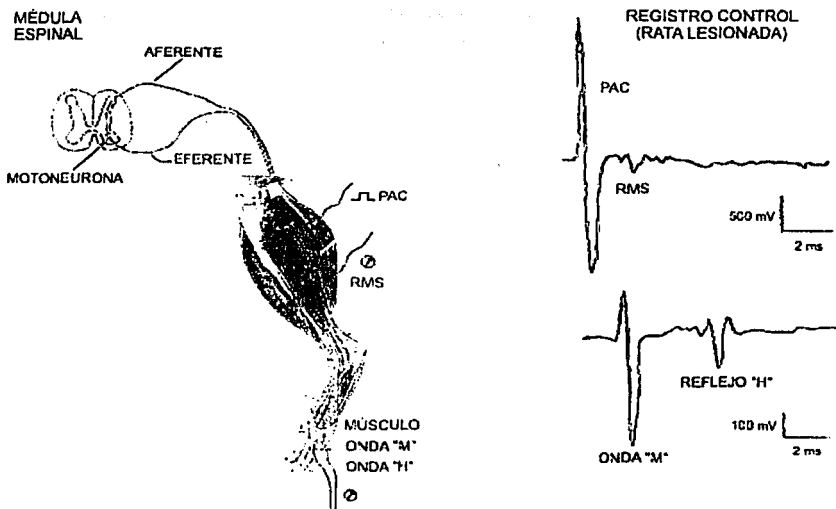


Figura 3. Representación esquemática del sistema de estimulación y del registro electrofisiológico, utilizado para analizar la recuperación de los reflejos H y monosináptico de la rata a los 3 y 10 días post-lesión.

La actividad electromiográfica (Onda M y reflejo H; Fig. 3) fue registrada en los músculos interóseos, localizados en la región plantar de la extremidad posterior izquierda, para ello se insertó un par de electrodos de aguja sobre la superficie plantar de la extremidad posterior entre el 4o. y 5o. dígitos. Los electrodos de registro se conectaron a un preamplificador (Grass P511) y la señal electromiográfica obtenida fue transferida a la interfase digital y a su vez al osciloscopio, la videocinta y la computadora (Fig. 3), para su posterior análisis.

La intensidad del estímulo aplicado fue determinada a partir de la intensidad mínima necesaria (umbral; T) para generar un potencial de acción compuesto (PAC) apenas

perceptible en el nervio plantar. Posteriormente se incrementó gradualmente la intensidad del estímulo hasta alcanzar la máxima amplitud de las respuestas (intensidad supramáxima). Hecho lo anterior, se determinó la amplitud de cada uno de los registros electroneurográficos y electromiográficos, considerando el factor de amplificación empleado en cada uno de ellos, a partir de la medida directa de los trazos en el osciloscopio o mediante cursores contenidos en un programa de computación diseñado *ex profeso* para ello en nuestro laboratorio. Después del experimento, se calculó el promedio, la desviación estándar y el error estándar de la amplitud al pico de cada una de las respuestas y las diferencias entre los valores control y los experimentales fueron determinados mediante una prueba de t de Student, con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

Perfusión:

Al término del experimento se procedió a perfundir al animal de la siguiente manera: Mediante una toracotomía amplia, se expuso la cavidad torácica y se insertó una cánula en el ventrículo izquierdo del corazón. Con unas tijeras de punta fina se realizó una incisión en el ventrículo derecho (para dar salida al líquido de perfusión). A través de la cánula y de un sistema de mangueras, frascos y llaves de paso (colocados a una altura de 1.5 m), se perfundieron por gravedad a los animales con 200 ml de una solución salina al 0.9%. Enseguida, se perfundieron los animales con 150 ml de una solución de formol al 10%, hasta observar el cese de contracciones musculares y la presencia de rigidez corporal. Posteriormente, se extrajo un segmento de la región torácica de la médula espinal que comprendiese un centímetro rostral y uno caudal a la lesión y se colocó en un frasco con formol al 10%, para asegurar la fijación y conservarla hasta el momento de

realizar el análisis histológico del tejido.

Histología:

El segmento de médula extraído fue colocado en un bloque de gelatina y se seccionó con un vibratomo, con el que se obtuvieron cortes de 40 μm de grosor. Los cortes fueron depositados en secuencia, conforme iban obteniéndose, en un recipiente con solución salina isotónica, para posteriormente colocarlos en un portaobjetos con un cubreobjetos sellado con cera, impidiendo su deterioro por manipulación.

Mediante una cámara lúcida, se obtuvieron bosquejos a lápiz de los cortes histológicos en donde se observaron los daños producidos por la contusión. Con tales bosquejos se determinó la magnitud y los posibles tractos y vías espinales traumatizadas (véase la figura 4 de Resultados).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

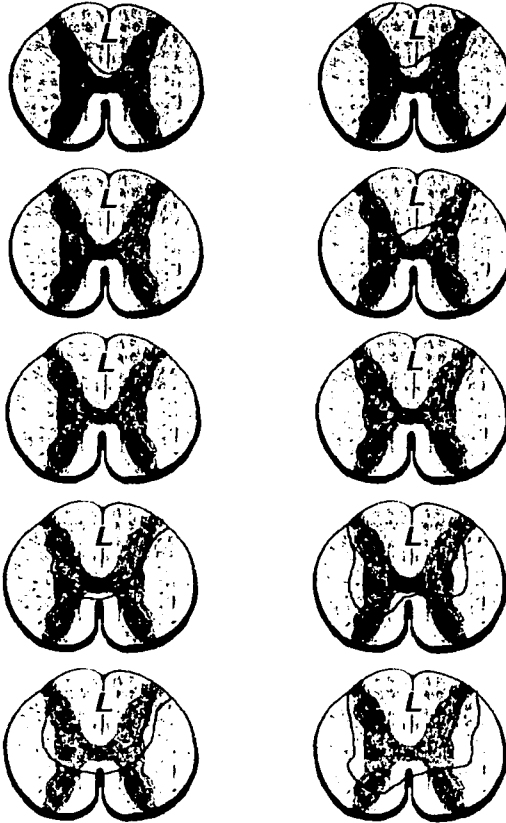
RESULTADOS

Análisis histológico de las lesiones producidas por la contusión de la médula espinal torácica.

En la figura 4 se ilustran los dibujos sucesivos de varios cortes histológicos (n=6) de la médula espinal torácica a nivel del 8º segmento torácico, los cuales fueron seleccionados de acuerdo a la magnitud del daño tisular producido por la contusión espinal. Los cortes histológicos fueron realizados después de la sesión experimental de registro de los reflejos espinales al 3er. (n=6) y 10o. (n=6) días post-lesión. En la mayoría de los casos, la contusión espinal produjo un daño tisular intenso en regiones de la sustancia gris y blanca de la médula espinal torácica, el cual comprende áreas que corresponden a las columnas dorsales y parte de las columnas laterales, así como de ambos cuernos dorsales y la región intermedia de la médula espinal (Fig. 4).

Puesto que la trayectoria de la mayoría de los axones aferentes, que provienen de receptores cutáneos y musculares, cursa por los cordones dorsales (Sherrington, 1947), llevando la información sensorial desde el sistema nervioso periférico hacia el central, es factible suponer que las lesiones espinales como las observadas en la médula espinal torácica, impliquen severas consecuencias funcionales sobre la transmisión de la información sensorial de los segmentos espinales caudales hacia los distintos sistemas supra-espinales (por ejemplo, los tractos espino-tálamicos y espino-corticales) produciendo un déficit de importancia en la información sensorial que resulta ser de particular necesidad para el adecuado control por parte del sistema nervioso central de una enorme variedad de sistemas espinales, sensoriales y motores.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Cortes sucesivos a los 3 días

Cortes sucesivos a los 10 días

Figura 4. Dibujos de cortes sucesivos que muestran los daños causados por la contusión del segmento espinal T8 a los 3 (n=6) y 10 (n=6) días post-lesión en la rata. (L = área Lesionada).

De la misma manera, la lesión de las columnas dorso-laterales afectaría notoriamente la trayectoria de varios tractos descendentes, tales como el haz córtico-espinal (encargado del control motor fino de las extremidades; Noble, L. J. and Wrathall, R. J. 1985), del haz rafé-espinal (que participa en la modulación espinal de la información nociceptiva en la médula espinal; Towe, 1981).

Por otra parte, la lesión bilateral de los cuernos dorsales y de la región intermedia de la sustancia gris espinal afectaría considerablemente a diversos sistemas propioespinales, algunos de los cuales participan en la regulación de la actividad de diversos grupos de interneuronas, localizados en segmentos caudales a la lesión y que participan, como centros de relevo, en la transmisión de información hacia centros supraespinales, como es el caso del tracto espino-cerebeloso (Noble, L. J. and Wrathall, R. J. 1985) o bien que participan en la regulación de la actividad neuronal basal de la médula espinal (Manjarrez, 2000).

Efecto de la contusión espinal sobre las pautas conductuales motoras.

En la figura 5 se ilustran los efectos que produce la lesión por contusión de la médula espinal torácica sobre la locomoción (marcha), el reflejo de extensión de los dedos y de la articulación del tobillo de las patas traseras y de los cambios de postura asociados al enderezamiento de los animales control y lesionados. Como se puede apreciar en la gráfica A, a los 3 días posteriores a la contusión espinal se apreciaba una drástica reducción (hasta aproximadamente un 5% del control) en la conducta locomotora de las ratas experimentales (marcha), impidiéndoles realizar movimiento alguno con las patas traseras. Sin embargo, a los 10 días post-lesión los animales recuperaban hasta un 30% de su capacidad locomotora y comenzaban a utilizar nuevamente a sus miembros posteriores para realizar algunos movimientos rítmicos, acordes con la marcha, aunque no

participaban en la propulsión corporal de las ratas.

Efectos similares fueron observados al analizar el reflejo de extensión de los dedos y de la articulación del tobillo de las patas traseras de los animales experimentales, antes y después de la contusión espinal (Fig. 5 B). Cabe señalar que este tipo de conducta refleja tuvo un mayor grado de recuperación (entre un 60 y 70 %) a los 10 días post-lesión que la observada en la conducta de marcha.

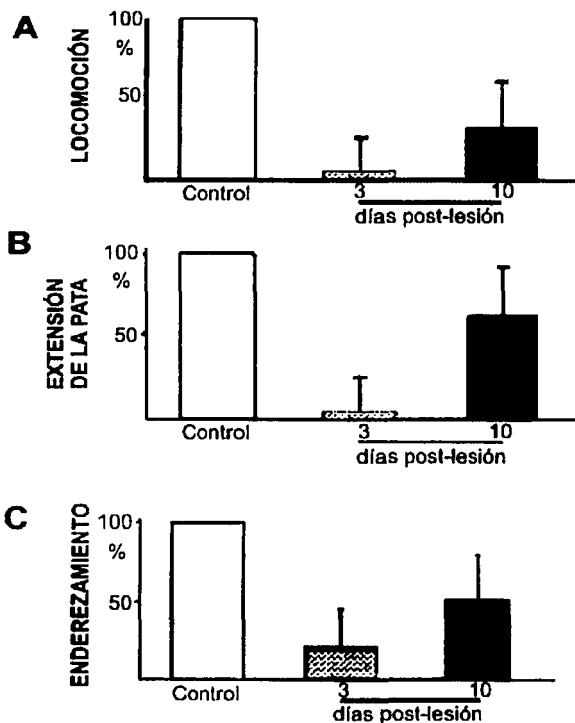


Figura 5. Efecto de la lesión torácico-espinal sobre el rendimiento motor de la rata. Obsérvese la recuperación motora (locomoción, extensión de las patas y enderezamiento) a los 3 y 10 días post-lesión.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

	LOCOMOCIÓN	EXTENSIÓN DE LA PATA	ENDEREZAMIENTO
Control	5.00 ± 0.224	2.00 ± 0.224	2.00 ± 0.224
Lesión 3er. día	0.313 ± 0.014	0.125 ± 0.014	0.438 ± 0.049
Lesión 10o.. día	1.719 ± 0.077	1.250 ± 0.140	1.000 ± 0.112

Tabla 2. Valores promedio de la Recuperación Motora de la Rata: **Promedio ± Error Estándar** para cada valor.

De igual manera, la contusión espinal redujo significativamente ($p < 0.05$) el reflejo de enderezamiento de los animales lesionados a los 3 días post-lesión (aproximadamente a un 10-20% de la condición previa a la lesión torácica). Tal respuesta refleja tuvo una recuperación parcial (hasta el 50% de la condición control) a los 10 días post-lesión (Fig. 5 C, Tabla 2).

Efecto de la contusión espinal torácica sobre las respuestas electroneurográficas y electromiográficas de la rata.

La respuesta eléctrica (electroneurograma; ENG) producida por un estímulo eléctrico (de 0.5 ms e intensidad supramáxima) y registrada en el nervio plantar presenta dos componentes, el primero con una latencia de 0.3-0.8 ms, que corresponde al potencial de acción compuesto (PAC) generado por la excitación de axones aferentes y eferentes presentes en el nervio motor (Fig. 6). También se presenta un segundo potencial, de mayor latencia (2-3 ms), que corresponde al reflejo monosináptico (RMS), el cual es la respuesta refleja producida por la excitación de las motoneuronas espinales que a su vez es debida a la estimulación de las fibras aferentes (Fig. 6 b; Stanley et al. 1981).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

De igual manera, la respuesta eléctrica que se registra en los músculos plantares (electromiograma; EMG) de la pata de los animales, presenta dos componentes, el primero de latencia corta (2-4 ms) denominado onda M (Fig. 6), que corresponde a la activación directa de las fibras musculares por axones motores y en su generación no participa ningún circuito espinal, y un segundo componente, de latencia más larga (8-12 ms), conocido como reflejo H, el cual resulta de la activación refleja de las motoneuronas espinales y cuyos axones eferentes inducen la activación de las fibras musculares (Magladery and McDougal, 1950, Mazzochio et al. 1995; Gozariu et al. 1998).

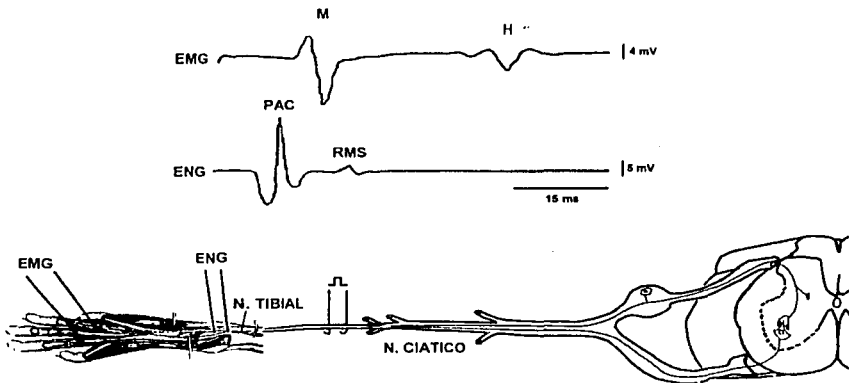


Figura 6. La respuesta eléctrica que se registra en los músculos plantares de la pata del animal, presenta dos componentes, el primero la Onda M y el segundo el reflejo H, del mismo modo la respuesta eléctrica registrada en el nervio plantar presenta dos componentes, el PAC y el RMS.

En todos los animales empleados en este estudio, tanto controles como experimentales, para provocar las distintas respuestas electroneurográficas y electromiográficas se utilizaron estímulos simples de 0.5 ms de duración e intensidad

graduada, que se aplicaron con una frecuencia de uno cada 8 segundos, ello para evitar que los estímulos coincidieran temporalmente con el período refractario de la activación de las motoneuronas. En las gráficas de la figura 7, se ilustran los valores de la amplitud de cada una de las respuestas ENG y EMG provocadas.

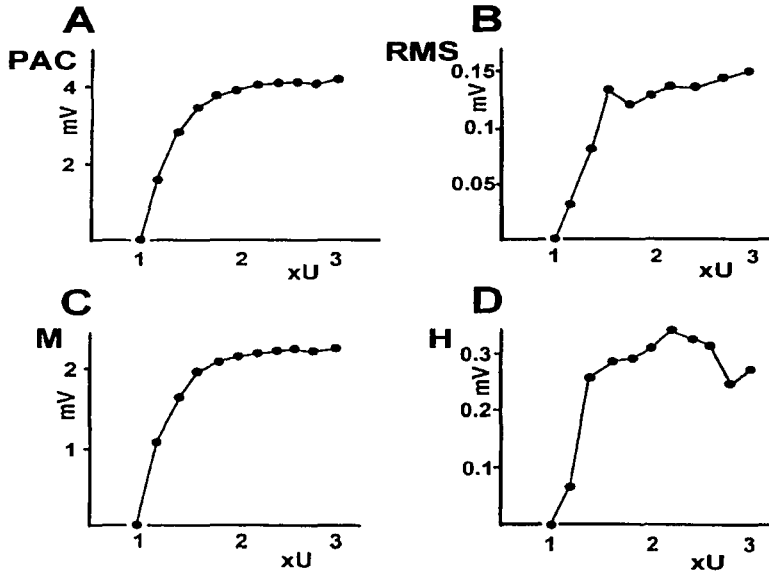


Fig. 7. Amplitud promedio de las respuestas ENG y EMG registradas en el nervio y en los músculos plantares de la rata ante intensidades crecientes de estimulación (veces umbral; xU) del nervio tibial.

Como se puede apreciar en esta figura, los potenciales registrados en el nervio plantar y en los músculos plantares, fueron aumentando de amplitud de manera

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

exponencial, a medida que se incrementaba gradualmente la intensidad del estímulo aplicado al nervio tibial. Estos resultados sugieren la activación gradual y paulatina de los elementos neuronales que generan los potenciales registrados (reclutamiento; Somjen and Heath, 1966; Tavoricova and Sax, 1968; Perot et al. 1994; Gozariu et al. 1998; Meinck, 1976; Stanley, 1980; Voight and Sinkjaer, 1998; Nozaki et al. 1998). Asimismo, las distintas respuestas electrofisiológicas fueron aumentando de amplitud en forma paralela entre sí, llegando a su amplitud máxima cuando el nervio tibial fue estimulado con una intensidad de 1.8 y 2.2xT, valor en que se considera que la mayoría de las fibras aferentes y eferentes mielinizadas fueron excitadas (Somjen and Heath, 1966; Tavoricova and Sax, 1968; Perot et al. 1994; Gozariu et al. 1998; Meinck, 1976; Stanley, 1980; Voight and Sinkjaer, 1998; Nozaki et al. 1998). Por lo anterior, en el presente estudio utilizamos una intensidad de estimulación 2xT para provocar las respuestas electroneurográficas y electromiográficas en los animales control y lesionados.

En la gráfica de la figura 8, se muestran los valores promedio ($n=8$ por condición experimental) de la amplitud promedio de los distintos potenciales ENG y EMG registrados en las ratas de los lotes control y lesionadas con 3 y 10 días de recuperación post-lesión. Como se puede observar, la contusión torácica de la médula espinal produjo una reducción significativa en la amplitud del PAC ($p<0.05$) a los 3 días post-lesión, con respecto a la obtenida en los animales control. Tal efecto se mantuvo hasta los 10 días post-lesión, en donde la respuesta electroneurográfica mostró una leve recuperación en su amplitud, pero continuó siendo significativamente menor ($p<0.05$) que la provocada en las ratas control (Fig. 8, Tabla 3), (se hizo uso de la prueba t de Student, con $p<0.05$).

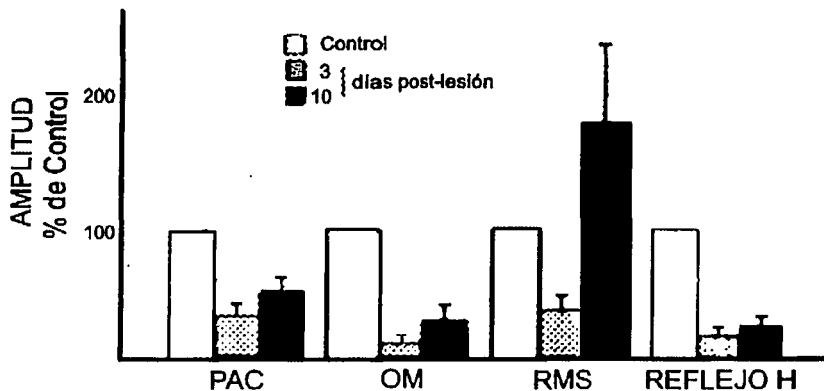


Figura 8. En la gráfica se muestra el efecto de las lesiones torácicas sobre la amplitud promedio porcentual de las respuestas ENG (PAC y RMS) y EMG (OM Y RH).

	PAC	OM	RMS	RH
Control	2997.61 ± 395.04	157.65 ± 22.35	2617.30 ± 251.16	310.66 ± 49.62
Lesión 3er. día	959.24 ± 42.67	18.92 ± 3.74	942.23 ± 81.03	49.71 ± 7.35
Lesión 10o. día	1438.85 ± 202.22	50.45 ± 22.71	4711.14 ± 706.84	74.56 ± 13.27

Tabla 3. Amplitudes promedio del PAC y RMS registradas en el nervio tibial, y de la OM y el RH registradas en músculos plantares: **Promedio ± Error Estándar** para cada amplitud.

La amplitud de la onda M, registrada en el músculo plantar de los animales lesionados con respecto a los control, muestra un comportamiento semejante al del PAC

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

(Fig. 8, Tabla 3). A los 3 días post-lesión, el valor promedio de la amplitud de la onda M fue aproximadamente del 10% de la obtenida en los animales control, mientras que a los 10 días alcanza un valor aproximado del 25% (Fig. 8, Tabla 3). Lo mismo aconteció con la respuesta refleja H, la cual presentó a los 3 días post-lesión una amplitud promedio que correspondía al 15% del valor control, mientras que a los 10 días fue del 20%, aproximadamente. En contraste, el reflejo monosináptico (RMS) presentó a los 3 días posteriores de la contusión espinal una amplitud promedio que correspondió al 40% de la amplitud de los reflejos control ($p < 0.05$), mientras que a los 10 días y de manera sorpresiva el RMS mostró una amplitud promedio que fue significativamente mayor, en un 180%, que el RMS provocado en los animales control (Fig. 8, Tabla 3).

El efecto producido por la contusión espinal sobre las respuestas ENG y EMG, registradas en el mismo animal y de manera paralela entre sí, podría determinarse con mayor claridad si se establecen las relaciones de entrada-salida de cada una de las respuestas, esto es, la relación existente entre la amplitud de la onda M, RMS y del reflejo H (salida) con respecto a la amplitud del PAC (entrada) y la del reflejo H (salida) con respecto al RMS (entrada).

La figura 9 ilustra las gráficas obtenidas con los valores de las relaciones entrada-salida (véase la Tabla 4) determinadas para cada una de las respuestas ENG y EMG registradas. La gráfica A muestra que los valores de la relación onda M / PAC no presentan diferencias significativas entre sí, antes y después de la contusión torácica. En cambio, la relación RMS / PAC se ve notoriamente incrementada a los 10 días post-lesión (Fig. 9 B), lo cual contrasta notoriamente con la relación Reflejo H / PAC, la cual adquiere valores significativamente menores que los obtenidos para las respuestas de animales control, tanto al 3er. y 10o. día post-lesión (Fig. 9 C).

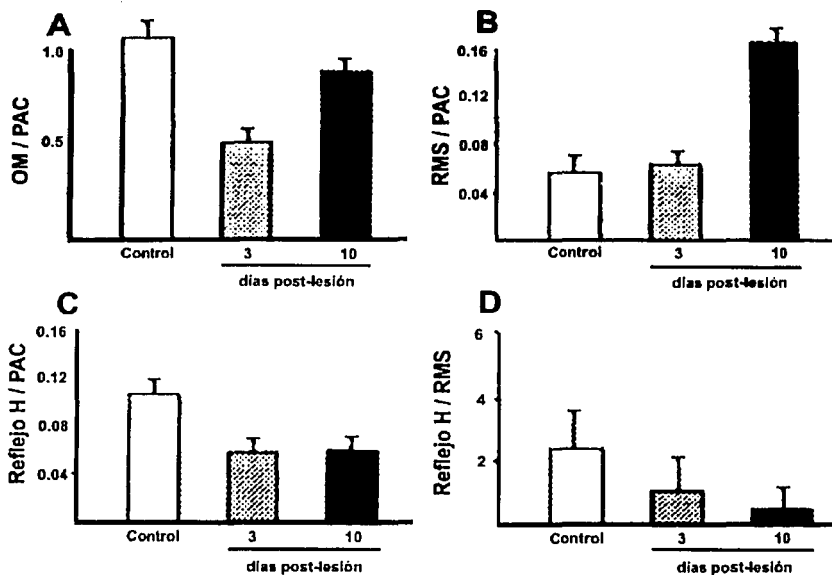


Figura 9. Relaciones de entrada y salida entre las respuestas ENG y EMG, provocadas en ratas control y lesionadas.

	<i>OM / PAC</i>	<i>RMS/ PAC</i>	<i>RH / PAC</i>	<i>RH / RMS</i>
<i>Control</i>	1.250 ± 0.212	0.065 ± 0.015	0.108 ± 0.014	2.108 ± 0.325
<i>Lesión 3er. día</i>	0.992 ± 0.376	0.100 ± 0.039	0.100 ± 0.039	0.999 ± 0.001
<i>Lesión 10o.. día</i>	0.930 ± 0.258	0.174 ± 0.049	0.095 ± 0.025	1.223 ± 0.711

Tabla 4. Relaciones de entrada y salida entre las respuestas ENG y EMG, provocadas en ratas control y lesionadas; **Promedio ± Error Estándar** para cada relación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DISCUSIÓN

Las observaciones experimentales que se obtuvieron en el presente estudio permiten proponer que la contusión experimental de la médula espinal torácica, a nivel del segmento T8 provoca a los 10 días post-lesión un efecto diferencial sobre las respuestas reflejas registradas en el nervio (reflejo monosináptico) y en los músculos (reflejo H) plantares de la rata, respectivamente. Esto es, la contusión espinal induce la facilitación del reflejo monosináptico mientras que deprime significativamente el reflejo H. Estas observaciones concuerdan, cada una por separado, con las evidencias reportadas por Hultborn y Malmsten (1983) en el gato y Malmsten (1983) en la rata para el reflejo monosináptico y por Thompson (1992) y colaboradores en la rata para el reflejo H.

Nuestras observaciones también permiten suponer que la contusión espinal es capaz de inducir, de alguna manera, la separación de los procesos que dan origen a los reflejos monosináptico y H, respectivamente. Es ampliamente aceptado que el reflejo monosináptico, como su nombre lo indica, resulta de la activación de una sola conexión sináptica entre las fibras aferentes y las motoneuronas espinales (Stanley, 1981; Rudomin et al. 1991) y su eficacia para activar a éstas últimas depende en gran medida del aporte de las influencias descendentes o propio-espinales que actúan, ya sea a nivel post-sináptico sobre la motoneurona o presináptico sobre las mismas fibras aferentes (Rudomin, et al. 2000; Manjarrez, et al. 2000; Gossard, et. al, 1999). En cambio, el reflejo H resulta de la activación sináptica de las motoneuronas y de las acciones sinápticas que éstas realicen sobre las fibras musculares, lo cual involucra la participación de cuando menos dos sinapsis interpuestas (Sanes and Lichtman, 1999; Táborková, 1968; Cheng et al. 1998; Voigt and Sinkjaer, 1998). Esta configuración sináptica confiere la posibilidad de

que la eficacia de ambas sinapsis (la aferente y la neuromuscular) puedan estar sujetas a mecanismos de modulación diferentes y actuar por separado e independientemente.

Nuestros resultados también podrían indicar que el reflejo monosináptico representa con mayor fidelidad a la excitabilidad de las motoneuronas espinales, mientras que el reflejo H es representativo de la activación de las fibras musculares activadas por la influencia sináptica de las motoneuronas (dependiendo de la escasa o intensa eficacia sináptica en la unión neuromuscular).

Esto último, permite avizorar los posibles mecanismos involucrados en la generación de los efectos que produce una lesión espinal torácica sobre los reflejos monosinápticos y H. Por un lado, se conoce que una lesión espinal, por contusión o por sección induce la reducción de la entrada sináptica inhibitoria (segmental y/o descendente) ejercida sobre las motoneuronas espinales (Thompson, 1992), lo cual incrementaría la excitabilidad de las mismas, mientras que por el otro lado, se presenta la posibilidad de que, asociada a la lesión espinal ocurra una disminución en la eficacia sináptica de las terminales eferentes (uniones neuro-musculares). Esto último podría estar relacionado con una posible reducción en la cantidad de neurotransmisores y factores tróficos que se liberan de la unión neuro-muscular (posiblemente por una disminución en el transporte axonal o en la síntesis del neurotransmisor o de factores tróficos), lo que a su vez podría explicar, por una parte la notoria reducción del reflejo H y por otra, la sensible disminución de la fuerza y masa muscular presentados por pacientes y animales experimentales con lesiones espinales (Schwab and Bartholdi, 1996).

En este aspecto, conviene señalar que la disminución de la amplitud del reflejo H también podría deberse a cambios en las propiedades electro-mecánicas de las fibras musculares. Recientemente han surgido evidencias experimentales que indican que asociada a una lesión espinal se presenta una reducción en la respuesta contráctil de los

músculos, la cual posiblemente sea el resultado de alteraciones de los mecanismos encargados de la disposición de Ca^{++} intramuscular (Castro et al, 2000 A y B; Gerrits, et al. 2000).

Por otra parte, a partir de nuestros resultados también se podría proponer que el incremento en la excitabilidad de las motoneuronas es una respuesta adaptativa del sistema nervioso ante la ausencia de información sensorial, derivada ésta de la falta de actividad de los receptores del huso muscular. Esta posibilidad adquiere fuerza si se considera que el efecto facilitador del reflejo monosináptico se observa a los 10 días post-lesión mientras que la disminución del reflejo H (y también del reflejo monosináptico) se manifiesta a los 3 días posteriores a la lesión espinal torácica. Las diferencias en la temporalidad de ocurrencia de los efectos producidos por la contusión de la médula espinal sobre el reflejo monosináptico y el reflejo H reafirma la propuesta de que ambos reflejos están sujetos a mecanismos de modulación diferentes.

La caracterización e identificación de los posibles mecanismos involucrados en la generación de los reflejos espinales (monosináptico y H), cuya actividad estuviese afectada por la lesión espinal por contusión, requiere la implementación de estudios más detallados, en los que se utilicen protocolos de investigación y procedimientos experimentales orientados hacia ese fin, los que muy probablemente sean diferentes a los empleados en este estudio.

Resulta de gran importancia el señalar que la disminución de la amplitud del reflejo H ocurre en paralelo con la disminución en la conducta motora de los animales lesionados. Ello concuerda con las observaciones realizadas por Thompson y colaboradores en la rata (1992) y más recientemente por Goto y Hoshino en el gato (2001) y reafirma la consideración de que el registro del reflejo H resulta es un índice apropiado de la activación por vía nerviosa de las fibras musculares, por lo que resulta de gran utilidad

para la caracterización del déficit motor evidenciado en los animales o pacientes con lesión espinal.

Cabe señalar que el reflejo H ha sido extensamente utilizado en una gran variedad de estudios clínicos y de investigación sobre diversos padecimientos neurológicos, psiquiátricos, metabólicos, infecciosos o derivados de accidentes. Asimismo, el reflejo H ha sido empleado en distintos estudios con individuos normales, en reposo, durante la ejecución de un movimiento postural determinado o bien, en el proceso de locomoción. Particularmente, el registro del reflejo H ha probado su enorme utilidad en el desarrollo de procedimientos de rehabilitación, experimentales y/o clínicos, que han permitido reducir o mitigar las alteraciones provocadas por lesiones espinales, tanto en el humano como en los animales (como se ha comentado en la sección de Antecedentes). En este sentido, nuestras observaciones podrían sentar las bases para el diseño de procesos o procedimientos experimentales y/o clínicos que permitan disminuir por una parte, el incremento en la excitabilidad de las motoneuronas y por el otra, el reducir la depresión muscular de los pacientes o animales experimentales con lesiones espinales.

CONCLUSIONES

1. La contusión experimental del octavo segmento torácico provoca daños tisulares de consideración en áreas dorsales e intermedias de las substancias gris y blanca de la médula espinal.
2. La lesión por contusión de la médula espinal torácica deprime considerablemente la expresión de las pautas motoras de locomoción, enderezamiento y extensión de las extremidades posteriores.
3. La lesión espinal torácica provoca un efecto diferencial sobre los reflejos, monosináptico y H, de la rata. Esto es, provoca la facilitación del reflejo monosináptico y concomitantemente, la depresión del reflejo H.
4. A partir de los resultados obtenidos en este estudio, se propone que el aumento en la amplitud del reflejo monosináptico es el resultado de un incremento en la excitabilidad de las motoneuronas, el cual a su vez podría estar asociado a una reducción en la entrada sináptica inhibitoria, segmental o descendente, que incide sobre las motoneuronas espinales.
5. De igual manera, se propone que la reducción del reflejo H y de la actividad motora mostrada por los animales con lesión espinal se debe a alteraciones en la eficacia sináptica de las fibras eferentes (provenientes de las motoneuronas) sobre las fibras musculares, pudiendo ello estar asociado con una reducción en la liberación del neurotransmisor o de factores tróficos de la terminal nerviosa.
6. Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten sugerir que la lesión por contusión de la médula espinal al nivel torácico produce un efecto diferencial sobre los reflejos monosináptico y H, de la rata.

BIBLIOGRAFÍA.

- Allen, A. R. (1911) *Surgery of experimental lesions of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation*. Preliminary report. J. Am. Assoc. 57: 878-880.
- Allison, S. C. and Abraham, L. D. (2001). Sensitivity of qualitative and quantitative spasticity measures to clinical treatment with cryotherapy. Int. J. Rehabil. Res. Mar; 24 (1): 15-24.
- Angel, R. W. and Hoffmann, W. W. (1963). H-Reflex in normal, spastic and rigid subjects. Arch. Neurol. 8: 591-596.
- Bach y Rita, P. and Illis, L. S. (1993) Spinal shock: possible role of receptor plasticity and nonsynaptic transmission. Paraplegia 31:82-87.
- Beattie, M. S; Stokes, B. T. and Bresnahan, J. C. (1988) Pharmacological approaches to treatment of brain and spinal cord injury. In: Experimental Spinal Cord Injury: Strategies for Acute and Chronic Intervention Based on Anatomic and Behavioral Studies. New York: Plenum. P. 43-74.
- Bell, C. (1811) A new idea of the anatomy of the brain. London.
- Bjorklund, A. (1994) Spinal Cord repair. A question of making it work. Nature. Jan. 13, 367 (6459): 112-3.
- Bjorklund, A. (1994) Long distance axonal growth in the adult central nervous system. J. Neurol. Dec; 242 (1 suppl. 1): 533-5.
- Bohlman, H. H; and Ducker, T. B. (1992) Spine trauma in adults. In: The Spine, edited by R. H. Rothman and F. A. Simeone. Philadelphia, PA: Saunders, p. 973-1104.

- Braugher, J. M. and Hall, E. D. (1987) Correlation of methylprednisolone levels in cat with its effects on (Na+ K+)-ATPase, lipid peroxidation, and alpha motor neuron function. *J. Neurosurg.* 56: 838-844.
- Burke, R. and Rudomin, P. (1960) Spinal neurons and synapses. En: *Handbook of physiology sec. 1. The nervous system vol.1 part.2 pc: 877-944.*
- Burke, R. and Rudomin, P. (1977) Spinal neurons and synapses. En: *Handbook of physiology sec. 1. The nervous system vol.1 part.2 pc: 877-944.*
- Castro, M. J; Apple, D. F. Jr; Melton-Rogers S. and Dudley, G. A. (2000 A) Muscle fiber type-specific myofibrillar Ca (2+) ATPase activity after spinal cord injury. *Muscle Nerve.* Jan; 23 (1): 119-21.
- Castro, M. J; Apple, D. F. Jr; Rogers S, and Dudley, G. A. (2000 B) Influence of complete spinal cord injury on skeletal muscle mechanics within the first 6 months of injury. *Eur. J. Appl. Physiol.* Jan; 81 (1-2):128-31.
- Cingolani, H. and Houssay, A. (2000) Fisiología de las fases reflejas del movimiento. En *Fisiología humana de Houssay. 7ª. Ed. Ateneo pc. 915-936*
- Coombs, J. S; Eccles, C. and Fatt, P. (1955) The electrical properties of the motoneurone membrane, *J. Physiol. (Londres)* 130:291-325
- Coombs, J. S; Eccles, C. and Fatt, P. (1955) Excitatory synaptic action in motoneurons. *J. Physiol (Londres)* 130:374-395
- Coombs, J. S; Eccles, C. and Fatt, P. (1955) The specific ionic conductances and the ionic inhibitory post-synaptic potential, *J. Physiol. (Londres)* , 130:326-373.
- Crone, C. and Nielsen, J. (1989) Methodological implications of the post activation depression of the soleus H-reflex in man. *Exp. Brain Res.* 78 (1): 28-32.

- ✓ Chen, X. Y; Chen, L. and Wolpaw, J. R. (2001) Time course of H-reflex conditioning in the rat. *Neurosci. Lett. Apr.* 20; 302 (2-3): 85-8.
- ✓ Chen, X. Y; Feng-Chen, K. C; Chen, L; Stark, D. M. and Wolpaw, J. R. (2001) Short-Term and medium-term effects of spinal cord tract transections on soleus H-reflex in freely moving rats. *J. Neurotrauma. Mar;* 18 (3): 313-27.
- ✓ Ditunno, J, F. (1992) New spinal cord injury standards. *Paraplegia* 30: 90-91.
- ✓ Eccles, J. (1976) From electrical to chemical transmission in the central nervous system. *Notes Rec. R. Soc. Lond. Jan,*30 (2): 219-30
- ✓ Floeter, M. K. and Kohn, A. F. (1997) H-reflex of different sizes exhibit differential sensitivity to low frequency depression. *Electroencephalog. Clin. Neurophysiol. Dec;* 105 (6): 470-5.
- ✓ Funase, K. and Miles, T.S. (1999) Observations on the variability of the H reflex in human soleus. *Muscle. Nerve. Mar;* 22 (3): 341-6.
- ✓ Gale, K; Kerasidis, H and Wrathall. J. (1985) Spinal cord contusion in the rat: behavioral analysis of functional neurologic impairment. *Exp. Neurol.* 88, 123-134.
- ✓ Gerrits, H. L; de Haan, A; Sargeant, A. J; Dallmeijer, A. and Hopman M. T. (2000) Altered contractile properties of the quadriceps muscle in people with spinal cord injury following functional electrical stimulated cycle training. *Spinal cord. Apr;* 38 (4): 214-23.
- ✓ Gossard, J. Bouyer, L. and Rossignol, S. (1999) The effects of antidromic discharges on orthodromic firing of primary afferents in the cat. *Brain Res.* 17; 825:132-145.
- ✓ Goto, T. and Hoshino, Y. (2001) Electrophysiological, histological, and behavioral studies in a cat with acute compression of the spinal cord. *J. Orthip. Sci.* 6 (1): 59-67.

- γ Gozariou, M; Roth, V. and Keime, Le Bars. Willer. (1998) An electrophysiological investigation into the monosynaptic H reflex in the rat. *Brain Res. Vol. 782: 343-347.*
- γ Hall, M. (1833) On the reflex function of the medulla oblongata and medulla spinalis. *Philosophic. Trans. Roy. Soc. Lond. Pc. 123-635.*
- γ Henneman, E, Somjen, G. and Carpenter, D. O. (1965) Excitability and inhibitability of motoneurons of different sizes. *J. Neurophysiol. May. 28 (3): 599-620.*
- γ Hoffmann, P. (1918) Über die Beziehungen der sehen Reflexe zur willkürlichen Bewegung und zun Tonus. *Z. Biol. 68: 351-370.*
- γ Hoffmann, P. (1922) Untersuchungen über die Eigenreflexe (Sehnenreflexe) menschlicher Muskeln. Springer, Berlin, 106 pp.
- γ Hughes, J. T. (1974) Pathology of spinal cord damage in spinal injuries. In: *Brock's Injuries of the Brain and Spinal Cord*, edited by E. H. Feiring. New York: Springer, p.668-687.
- γ Hultborn, H. and Malmsten, J. (1983 A) Changes in segmental reflex following chronic spinal cord hemisection in the cat. I. Increased monosynaptic test reflexes. *Acta Physiol. Scand. Dec; 119 (4) 405-22.*
- γ Hultborn, H. and Malmsten, J. (1983 B) Changes in segmental reflexes following chronic spinal cord hemisection in the cat. II. Conditioned monosynaptic reflexes. *Acta Physiol. Scand. Dec; 119 (4): 423-433.*
- γ Hultborn, H. Meunier, S. Morin, C. and Pierrot, D. (1987) Assessing changes in presynaptic inhibition of Ia fibres: a study in man and the cat. *J. Physiol. (Lond) 389: 729-756.*

- Hultborn, H; Illert, M; Nielsen, J; Paul, A; Ballegaard, M. and Wiese, H. (1996) On the mechanism of the post-activation depression or the H-reflex in human subjects. *Exp. Brain Res.* Mar. 108 (3): 450-62.
- Hunt, C. C. (1955). Temporal fluctuation in excitability of spinal motoneurons and its influence on monosynaptic response. *Gen Physiol.* 38: 801-811.
- Ikata, T; Iwasa, K. Morimoto, K. Tonai, T. and Taoka, T. (1989) Clinical considerations and biochemical basis of prognosis of cervical spinal cord injury. *Spine* 14:1096-1101.
- Kakulas, B. A. and Taylor, J. R. (1992) Pathology of injuries of the vertebral column and spinal cord. In: *Handbook of clinical Neurology*, edited by H. L. Frankel. Amsterdam: Elsevier, p.21-51.
- Kohn, A. F; Floeter, M. K. and Hallett, M. (1997) Presynaptic inhibition compared with homosynaptic depression as an explanation for soleus H-reflex depression in humans. *Exp. Brain Res.* Sep; 116 (2): 375-80.
- Kushnir, M; Klein, C. and Rabey, J. M. (2001). H Reflex behavior in Parkinson's disease patients and patients with extrapyramidal and pyramidal signs combined. *J-Neurol. Sci.* May 1; 186 (1-2): 101-5.
- LaBella, L. A. and McCrea, D. A. (1990) Evidence for restricted central convergence of cutaneous afferents on an excitatory reflex pathway to medial gastrocnemius motoneurons. *J. Neurophysiol.* Aug; 64 (2): 403-12.
- Lodge, D. and Anis, N. (1984) Effects of ketamine and three other anesthetics on spinal reflexes and inhibitions in the cat. *Br. J. Anaesth.* 56:1143-1151.

- Y Lu, J; Feron, F; Ho, S. M; Mackay-Sim, A. and Waite, P. M. (2001) Transplantation of nasal olfactory tissue promotes partial recovery in paraplegic adult rats. *Brain. Res.* Jan 19; 889 (1-2): 344-57.
- Y Mascher, B. Schlenke, P. and Seyfart, M. (1999) Expression and kinetics of cytokines determined by intracellular staining using flow cytometry. *J Immunol Methods.* 1; 223(1): 115-121.
- Y Magendie, F. (1822) *J. Physiol.* (cited by Sherrington).
- Y Magladery, J. (1955) Some observations on spinal reflexes in man. *Pflügers Archiv.* Vol.261:302-321.
- Y Magladery, J. and Mcdougal, D. (1950) Electrophysiological studies of nerve and reflex activity in man. Identification of certain reflexes in the electromyogram and the conduction velocity of peripheral nerve fiber. *Bull Johns Hopkins Hosp.* 86:265-290.
- Y Malmsten, J. (1983) Time course of segmental reflex changes after chronic spinal cord hemisection in the rat. *Acta Physiol. Scand.* Dec; 119 (4): 435-43.
- Y Manjarrez, E. Rojas-Piloni, J. Jiménez, I. and Rudomin, P. (2000) Modulation of synaptic transmission from segmental afferents by spontaneous activity of dorsal horn spinal neurones in the cat. *J. Physiol.* 1; 529, 2:445-460.
- Y Mazzocchio, R. Rothwell, J. and Rossi, A. (1995) Distribution of Ia effects onto human hand muscle motoneurons as revealed using an H-reflex technique. *J. of Physiology.* Vol. 489.1: 263-273.
- Y Meinck, H. M. (1976) Occurrence of the H reflex and the F wave in the rat. *Electroencephalography and clinical neurophysiology.* 41: 530-533.

- Muñoz-Martínez, E. J. y García, X. *Fisiología, células, organismos y sistemas*. U. X Tomo. V (ed) Científicas Universitarias, México. 1998
- Ninomiya, J. (1991) *Organización funcional del sistema nervioso*. Fisiología humana neurofisiología. (ed) El manual moderno SA de CV. México pc: 1-103.
- Noback, R. C. y Demarest, J. R. *Sistema Nervioso Humano*. McGraw-Hill. México. 1980
- Noble, L. J. and Wrathall, J. R. (1985) Spinal cord contusion in the rat: morphometric analices of alterations in the spinal cord. *Exp. Neurol.* 88: 135-149.
- Nozaki, D. Nakasawa, K. and Yamamoto, Y. (1996) Supraespalinal effects on the fractal correlation in human H reflex. *Exp. Brain Res.* Vol.112: 112-118.
- Pearson, K. G. (2000) Plasticity of neuronal networks in the spinal cord: modifications in response to altered sensory in put. *Prog. Brain Res.* 128: 61-70.
- Pérot, C. Almeida. Silveira. (1994) The human H and T reflex methodologies applied to the rat. *Journal of neuroscience methods*. Vol.51:71-76.
- Popesko, P. (1992) *Anatomy of small laboratory animals*. Pp: 253.
- Quevedo, J; Fedirchuk, B. Geosgnach, S. and McCrea, D. A. (2000) Group I disynaptic excitation of cat hindlimb flexor and bifunctional motoneurons during fictive locomotion. *J. Physiol.* Jun 1; 525 Pt 2: 549-64.
- Ramón y Cajal, S. (1928) *Degeneration and Regeneration of the Nervous System*. New York: Hafner.
- Raffaele, R; Cosentino, E; Anicito, M. B; Sciacca, A; Rampello, L; Pennisi, G; Genazzani, A. A. Bosco, G; Casabona, A. and Drago, F. (1992) Effects of TRH-T on spinal motoneurons in man. *Neuroreport*. Nov; 3 (11): 1017-8.

- Rexed, B. (1954) A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat. *J. Comp. Neurol.* 100:297-380.
- Roig, (1991) En: Organización funcional del sistema nervioso. Fisiología humana neurofisiología. (ed) El manual Moderno.
- Ruch, T.; Patton, H.; Walter, J. and Towe, A. (1965) *Neurophysiology* Sec. III Cap.6 Washington D.C.
- Rudomín, P. and Dutton, H. (1968) The effects of primary afferent depolarization on excitability fluctuations of Ia terminals within motor nucleus. *Experientia.* 24: 48-50.
- Rudomin, P. Jimenez, I. and Enriquez, M. (1991) Effects of stimulation of group Ia afferents from flexor muscles on heterosynaptic facilitation of monosynaptic reflexes produced by Ia and descending inputs: a test for presynaptic inhibition. *Exp. Brain Res.* Vol. 85:93-102.
- Rudomín, P. (2000) Primary afferent depolarization produced in A delta and C fibres by glutamate spillover?. *New ways to look at old things. J. Physiol.* Oct 1; 528 Pt 1:1.
- Sanes, J. R. and Lichtman, J. W. (1999) Development of vertebrate neuromuscular junction. *Annu. Rev. Neurosci.* 22:389-442.
- Schwab, M. E. and Bartholdi, D. (1996) Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev.* Apr; 76 (2): 319-70
- Setschenov. (1863) J.: Physiologische studien uver die hemmnungs mechanism für die reflex thatiskeit des ruckenmarkes in gerhirn des frosches. Hirschwald. Berlin.

- Sherrington, C. S; The integrative action of the nervous system, 2° ed. New Haven, Yale University Press, 1947
- Siegel. R. E. (1973) Galen on Psychology, Psychopathology and Function and Diseases of the Nervous System. Basel: Karger
- Solodkin, Muñoz-Martínez. y Jiménez, I. (1998) Sistema Nervioso. En Fisiología, células, órganos y sistemas. u.X Tomo.V (ed) Científicas Universitarias, México pc. 199-217.
- Somjen, G. and Herat, J. (1966) Covariation of monosynaptic reflexes in spinal and decerebrate cats. Exp. Neurology 15:79-94.
- Stanley, E. F. (1981) Sensory and motor nerve conduction velocities and the latency of the H reflex during growth of the rat. Exp. Neurology. Vol.71:497-506.
- Skinner, R. D; Houle, J. D; Reese, N.B; Berry, C. L. and García-Rill, E. (1996) Effects of exercise and fetal spinal cord implants on the H-reflex in chronically spinalized adult rats. Brain. Res. Aug 5; 729 (1): 127-31.
- Schwab, M. E. and Bartholdi D. (1996) Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. Physiol. Rev. Apr, 76 (2): 319-70.
- Sypert, G. W. (1990) Stabilization and management of cervical injuries. In: Craniospinal Trauma, edited by L. H. Pitt and Wagner, F. C. New York: Thieme. P.171-185.
- Táboriková and Sax. (1968) Motoneuron pool and the H reflex. J. Neurol. Neurosurg psychiat. Vol.31:354-361.
- Tang, A. and Schroeder, L. (1973) Spinal-cord depressant effects of ketamine and etoxadrol in the cat and the rat. Anesthesiology 39:37-43.



- Y Thompson, F. J.; Reier, P. J.; Schrimsher, G. W.; Jakeman, L. B. W.; Winialski, D.; Lucas, C. C. and Ray, L. R. (1989) Early changes in the control of primary afferent excitability following contusion injury of the rodent spinal cord. Soc. Neurosci. Abstr. 15: 1214.
- Y Thompson, J.; Reier, P.; Lucas, C. and Parmer, R. (1992) Altered Patterns of Reflex Excitability Subsequent to Contusion Injury of the Rat Spinal Cord. J. of Neurophysiology, Vol.68.5: 1473-1486.
- Y Towe, I. A. and Luschei, S. E. Handbook of Behavioral Neurobiology. Vol. 5. Motor coordination. Plenum Press. New York and London. 1981.
- Y Voigt, M. and Sinkjaer, T. (1998) The reflex in the passive human soleus muscle is modulated faster than predicted from post-activation depression. Brain Res. 783: 332-346.
- Y Zehr, E. P.; Heskett, K. L. and Chua, R. (2001) Differential regulation of cutaneous and H-reflex during leg cycling in humans. J. Neurophysiol. Mar; 85 (3): 1178-84.
- Y Zigmond, S. H. (1999) A method for movement. Nat. Cell. Biol. May; 1 (1): E12.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA