



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

**Facultad de Medicina
Licenciatura en Biomedicina**

**Instituto de Fisiología
Laboratorio de Neurofisiología Integrativa**

**Conectoma secuencial retículoespinal de un generador central de patrones
TESIS
Para obtener el grado de:
Licenciado en Biomedicina**

Presenta:

Luis Felipe Hernández Ramírez (201506264)

Director

D.C. Elías Manjarrez López

Co-Directora

D.C. Nayeli Huidobro González

Puebla Abril 2022

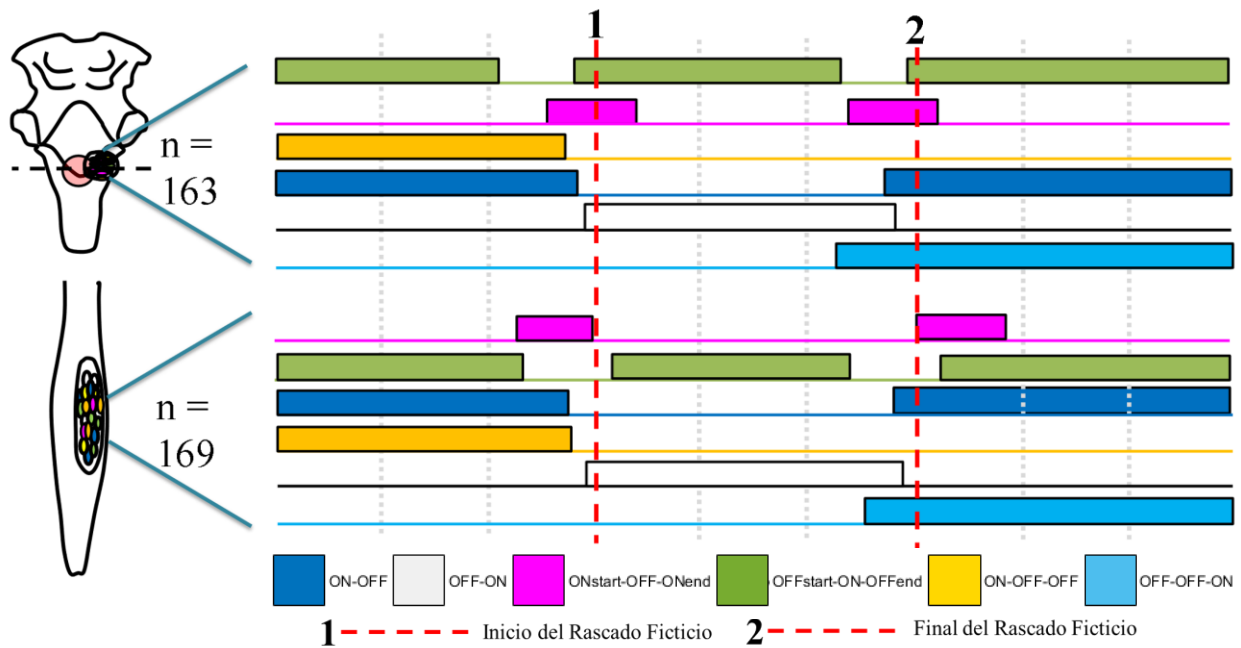
Índice

1	Resumen	5
2	Introducción	6
3	Antecedentes	7
3.1	Antecedentes generales.....	7
3.1.1	Generalidades Anatómicas del gato	7
3.1.1.1	Columna vertebral.....	7
3.1.1.2	Extremidad pélvica.....	7
3.1.1.3	Sistema nervioso	8
3.1.1.3.1	Formación reticular y núcleos de la médula espinal	14
3.1.1.3.2	Organización citoarquitectónica (Laminas de Rexed)	16
3.1.2	Sistema Motor Somático	17
3.1.2.1	Unidades motoras.....	19
3.1.2.2	El huso muscular	21
3.1.2.3	Reflejos espinales.....	22
3.2	Antecedentes específicos	23
3.2.1	Rascado Ficticio en el gato	23
3.2.2	Redes neuronales y Generadores Centrales de Patrones (GCP)	25
3.2.2.1	Generador Central de Patrones del rascado ficticio	25
3.2.2.2	Influencias supraespinales	27
3.2.2.3	Neuronas ON-OFF y OFF-ON	27
4	Planteamiento del problema.....	29
5	Objetivos.....	29
5.1	Objetivo general	29
5.2	Objetivos particulares	29
6	Material y Métodos	30

6.1	Diseño del estudio	30
6.1	Ubicación espacio-temporal.....	30
6.2	Estrategia de trabajo	30
6.3	Muestreo	30
6.3.1	Definición de la unidad de población.....	30
6.4	Técnicas y procedimientos.....	30
6.4.1	Procedimientos quirúrgicos generales.....	30
6.4.2	Producción del reflejo de rascado	31
6.4.3	Métodos de registro electrofisiológico	31
6.4.4	Análisis de datos	32
6.4.4.2	Spike sorting y cálculo de envolvente.....	33
6.4.4.3	Rastros de actividad y clasificación	34
6.4.4.4	Correlación cruzada y análisis de su significancia estadística.....	35
6.4.4.5	Conectoma	36
6.4.4.5.1	Grafo	37
6.4.4.5.2	PageRank.....	38
6.4.4.6	Análisis exploratorio de datos.....	38
7	Resultados.....	39
8	Discusión	48
8.1	Comportamiento homólogo y evolución de los circuitos.....	50
8.2	Circuitos Osciladores y comandos de tiempo.....	54
8.3	Machine Learning	55
9	Conclusiones	59
10	Bibliografía.....	60
11	Anexos.....	66

1 Resumen

Se realizaron experimentos en dos gatos descerebrados, de los que se obtuvieron registros simultáneos estables de 332 neuronas asociadas al generador central de patrones del rascado ficticio. Encontramos 163 neuronas de la formación reticular de la región del óbex, y 169 interneuronas de la médula espinal lumbar. Para el análisis de la correlación cruzada entre la actividad de diferentes pares de neuronas, empleamos técnicas computacionales de “Machine Learning”; en particular, usamos técnicas de análisis exploratorio de datos (EDA, por sus siglas en inglés). Encontramos 337 correlaciones cruzadas significativas entre neuronas de la formación reticular del óbex y de la médula espinal lumbar, lo que indica que hay neuronas en estas regiones anatómicas distantes que establecen conexiones funcionales. Con estos datos hemos construido un posible conectoma que revela la circuitería neuronal que pudiera estar implicada en la generación de la actividad rítmica de rascado en el gato. Estos datos muestran, que incluso una tarea motora sencilla como el rascado, requiere de un control fino que se logra por la dinámica entre circuitos en regiones del tallo cerebral y la médula espinal.



2 Introducción

Los generadores centrales de patrones, son redes espinales, que controlan el tiempo y el patrón de la actividad muscular subyacente a la locomoción en los mamíferos (Kiehn, 2006). En 1966, Orlovskiĭ et al. , reportaron, que tras la estimulación eléctrica del mesencéfalo en gatos a los que se les extrajo el telencéfalo y el diencéfalo, estos se levantaban de inmediato y comenzaban a caminar o correr en una cinta transportadora de manera “normal”. Desde entonces, la técnica evoluciono hasta la capacidad de registrar incluso neuronas centrales individuales en modelos despiertos (Armstrong, 1988) Así, estudios en varias especies de vertebrados, incluidas la lamprea, la salamandra, la raya, la rata, el conejillo de Indias, el conejo o el mono, han evidenciado que los programas para la locomoción están integrados con centros supraespinales (Ryczko & Dubuc, 2013). Pese al avance de las técnicas y tecnología usada en el campo de la electrofisiología, este tipo de experimentos (primero por su dificultad y segundo por la restricción cada vez más dura en el uso de modelos animales para experimentación) ha decaído drásticamente. Sin embargo, otros modelos aún aceptados siguen proveyendo información relevante para el entendimiento de los circuitos neuronales que comandan las extremidades posteriores en los mamíferos (Aguilar et al., 2020; Meza et al., 2019; Moreno-Castillo et al., 2020; Pratt et al., 1991). Más aún, Trejo et.al. (2015) han publicado evidencia que sugiere que las neuronas de la región lumbar de la médula espinal pueden estar asociadas a más de una tarea motora. Lo cual, también podría ser cierto para niveles superiores del sistema nervioso. Así los resultados de estudios en tareas distintas a la marcha, podrían considerarse en cierto nivel homólogos. En esta línea Cuellar et al. (2018), identificaron neuronas tanto en la zona del óbex como la región lumbar de la médula espinal, que hipotetizaron podrían tener una correlación funcional y ser las responsables de la generación de potenciales de campo u “ondas viajeras” durante la ejecución del rascado ficticio en el gato, primero reportadas en la médula espinal por Cuellar et al. (2009) y más tarde por Tapia et al. (2013) en la región del óbex. No obstante, no existe evidencia concluyente de tal correlación. Ergo, no se conoce el papel de las neuronas identificadas. Por ello, en este estudio se buscó determinar experimentalmente la correlación funcional de las neuronas del óbex y médula espinal que han sido relacionadas con la generación del rascado ficticio en el gato descerebrado. El análisis propuesto nos permitió corroborar la existencia de grupos neuronales reportados con anterioridad. Además, en ambas ubicaciones, se identificó y clasifíco la actividad de otras poblaciones discretas de neuronas. Hipotetizamos que dichas poblaciones ejercen comandos determinantes para el inicio y termino del rascado ficticio.

3 Antecedentes

3.1 Antecedentes generales

3.1.1 Generalidades Anatómicas del gato

3.1.1.1 Columna vertebral

La columna vertebral, componente principal del esqueleto axial, es un conjunto móvil de estructuras óseas superpuestas llamadas vértebras. En su interior, contiene a la médula espinal, a la vez que actúa como zona de anclaje para el esqueleto apendicular (König & Liebich, 2005). Sebastiani & Fishbeck (2005) describen en el gato cinco regiones: cervical, torácica, lumbar, sacra y caudal. Cada región posee un número diferente de vértebras el cual cambia dependiendo de la especie. En el gato: 7 cervicales, 13 torácicas, 7 lumbares, 3 sacras y de 21 a 24 coccígeas o caudas.

En general, las vértebras comparten estructuras como lo son: cuerpo vertebral, canal vertebral, apófisis espinosa, apófisis transversas, y apófisis articulares. El tamaño y la presencia de apófisis, facetas articulares o forámenes extras (Figura 1) varían según la región vertebral.

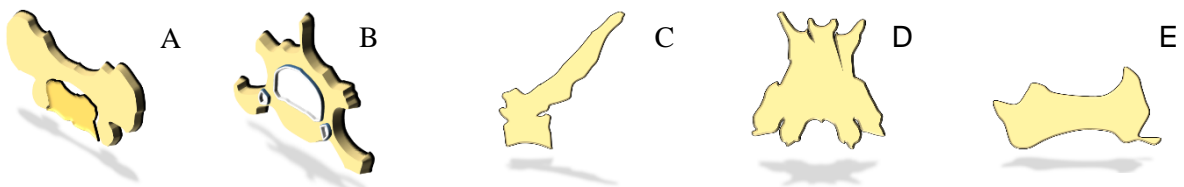


Figura 1. Vértebras a lo largo de la columna vertebral. Se observa la representación esquemática de las vértebras de las diferentes regiones a lo largo de la médula espinal del gato. Atlas (A); Cervical (B); Torácica (C); Lumbar (D); Caudal (E) (Sebastiani & Fishbeck, 2005).

3.1.1.2 Extremidad pélvica

Se constituye por el hueso iliaco y sacro (pelvis), el fémur (muslo), la tibia y el peroné (pierna), la rótula (rodilla), el tarso y metatarso (pie) y las falanges (dedos). Dichas articulaciones permiten realizar movimientos particulares como flexión, extensión, abducción, aducción o rotación, con diferentes grados de amplitud (König & Liebich, 2005).

3.1.1.3 Sistema nervioso

El sistema nervioso es uno de los sistemas más complejos y menos comprendidos en los animales. La complejidad de este sistema se refleja no solo en la anatomía sino también en su fisiología. Clásicamente, el cerebro y la médula espinal se agrupan como el sistema nervioso central, mientras que los nervios craneales, los nervios espinales y los nervios autónomos se conocen como el sistema nervioso periférico. El sistema nervioso central está separado del resto del cuerpo por tres capas protectoras conocidas como meninges. La más próxima a este es la piamadre. La piamadre está en íntimo contacto con el cerebro y es reconocida por su abundante vascularidad. La capa más externa, es además la más dura y fibrosa, la cual recibe el nombre de duramadre. Por último, la aracnoides es una membrana delicada que discurre entre la piamadre y la duramadre (Sebastiani & Fishbeck, 2005).

A su vez el cerebro contiene cavidades llamadas ventrículos. Los ventrículos I y II o laterales se encuentran en los hemisferios cerebrales izquierdo y derecho. Son cada uno conectado por un pequeño canal al ventrículo III que se produce en el diencefalo. El ventrículo III está conectado por un canal llamado el acueducto cerebral en el mesencefalo al ventrículo IV. Cada uno de estos ventrículos está cubierto por un complejo de tejidos llamado plexo coroideo. Un plexo coroideo consiste en el revestimiento interno del cerebro, el epéndimo y una porción altamente vascularizada de la piamadre. Este es el sitio de la "barrera hematoencefálica" que es eficaz para prevenir la contaminación del sistema nervioso central. Entre la piamadre y la aracnoides (espacio subaracnoideo) discurre el líquido cefalorraquídeo, que a su vez transita por los ventrículos cerebrales y el canal central de la médula espinal. Este es un líquido especializado que funciona como un lubricante y previene del daño mecánico al sistema nervioso central, además mantiene en una especie de estado de flotación al cerebro para que sea percibido como una fracción de su peso real (Martin, Radzyner, Leonard, & Arias, 2012).

El cerebro es la parte más grande del encéfalo y está ubicado en las fosas craneanas anterior y media. Este puede dividirse en dos partes: el diencefalo y el telencefalo. El diencefalo consiste en el tercer ventrículo y sus límites. Se extiende por atrás hasta el punto donde el tercer ventrículo se continúa con el acueducto cerebral y por adelante hasta los acueductos cerebrales (Snell, 2003). Este se divide en dos partes principales: el tálamo y el hipotálamo. El Tálamo se compone de varios núcleos que son fundamentales para la transmisión de información hacia y desde los hemisferios

cerebrales, mientras que el hipotálamo se encarga de orquestar la liberación de hormonas endócrinas de la hipófisis y las funciones generales del sistema autónomo (Martin, Radzyner, Leonard, & Arias, 2012).

Según Rosenzweig & Bennett (1996) en el gato como entre los mamíferos las estructuras principales se mantienen, pero su tamaño y complejidad cambian dependiendo del ambiente y las tareas que realiza el animal. Este es el caso del telencéfalo. La estructura más alejada de la médula espinal ubicada sobre el diencéfalo. En el humano con respecto al gato, es considerablemente más grande, tiene un mayor número de circunvoluciones y se divide en lóbulos reconocibles. Además, los bulbos olfatorios son considerablemente más pequeños (Sebastiani & Fishbeck, 2005). (Figura 2).

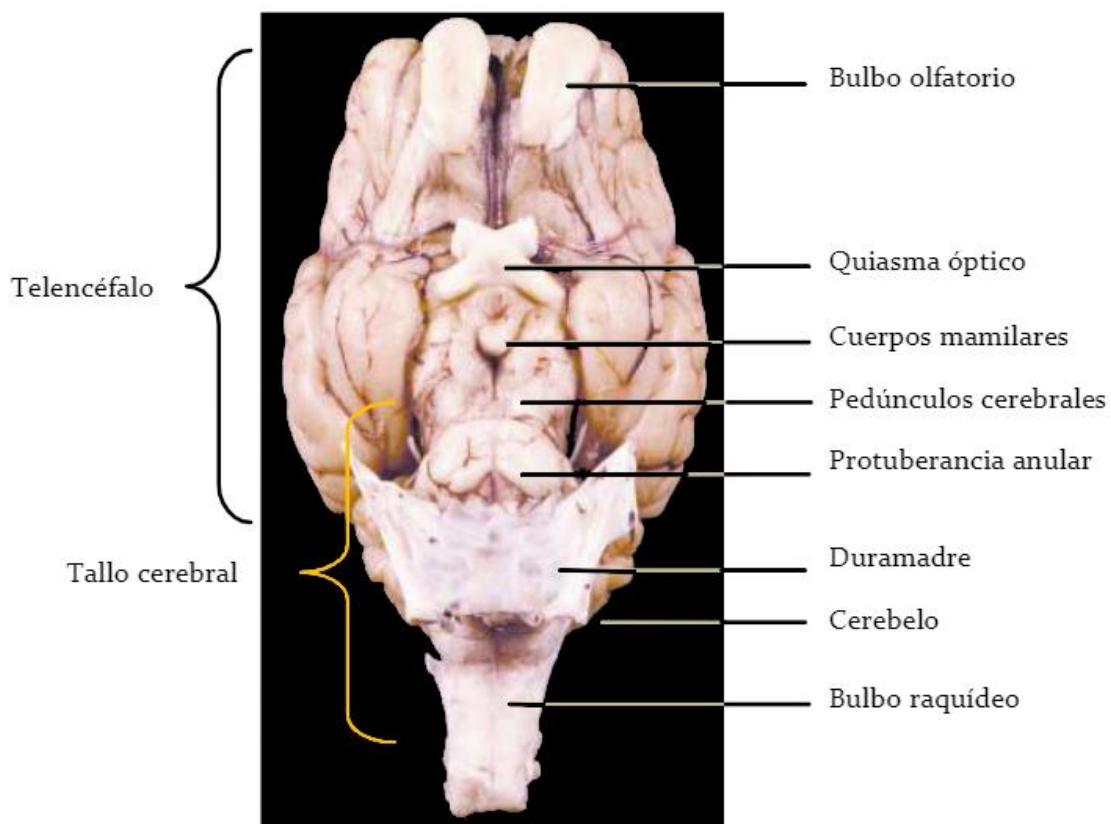


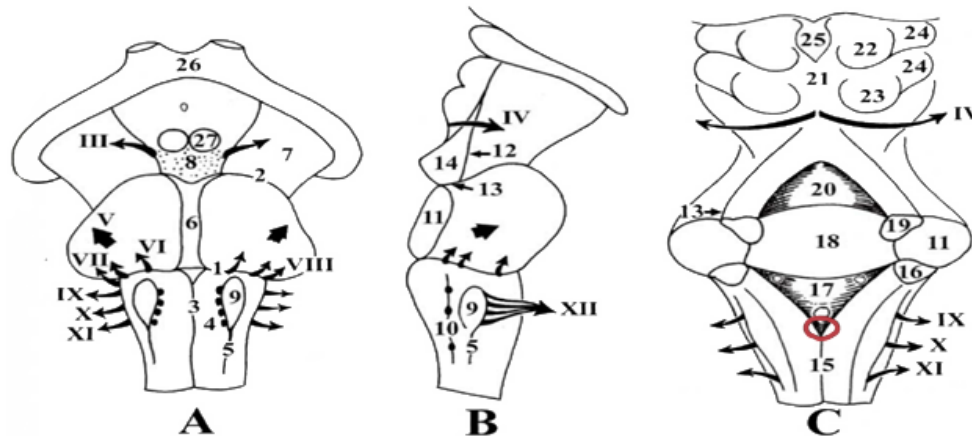
Figura 2. Encéfalo y tallo cerebral del gato. La figura muestra una vista ventral del encéfalo y tallo cerebral, donde señalan algunas estructuras, parte de los hemisferios cerebrales, nótese el gran tamaño de los bulbos olfatorios (Sebastiani & Fishbeck, 2005).

El tronco encefálico está ubicado entre la médula espinal y el diencéfalo, ocupando la fosa craneana posterior. Este está dividido en tres porciones en dirección cefalocaudal: mesencéfalo, protuberancia y médula oblonga. Las tres porciones están divididas en dos regiones: una dorsal

llamada “tectum” y una ventral llamada “tegmentum”, excepto la porción de la protuberancia la cual por si sola forma el tegmentum del metencéfalo y el cerebelo representa el tectum.

Visto en conjunto en el tronco del encéfalo pueden distinguirse cuatro caras: una anterior, una posterior y dos laterales. En la cara anterior se pueden encontrar dos surcos transversales profundos: el surco bulbopontino (de este surco se originan, de medial a lateral, los nervios craneales abducens o VI, facial o VII y vestibulococlear o VIII) y el surco pontopeduncular (se sitúa entre el puente y los pedúnculos cerebrales del mesencéfalo). La cara anterior de la médula oblonga presenta un surco medio, la fisura media anterior, que se continúa con el existente en la médula espinal. Este surco está cruzado en su porción inferior por fibras de la vía piramidal, la denominada desuación de las pirámides, que constituye su límite inferior (Ojeda, e Icardo de la Escalera 2004).

A ambos lados de la línea media existen dos relieves longitudinales, las pirámides de la médula oblonga, que están limitados lateralmente por el surco anterolateral. Por este surco sale el nervio hipogloso (XII). La cara anterior del puente muestra un canal medio, el surco basilar, donde se apoya la arteria del mismo nombre. La salida del nervio trigémino (V) puede tomarse como límite lateral de esta cara. La cara anterior del mesencéfalo presenta dos relieves longitudinales voluminosos, los pedúnculos cerebrales. Del borde medial del pedúnculo cerebral emerge el nervio oculomotor (III). La cara anterior del mesencéfalo se continúa cranealmente, sin un límite preciso, con el hipotálamo. Las caras laterales de la médula oblonga constituyen la prolongación superior de los cordones laterales de la médula espinal. En su porción superior se encuentran las olivas. Las caras laterales están separadas de la cara posterior por el surco posterolateral, por donde emergen, los nervios glossofaríngeos (IX), vago (X) y accesorio (XI). Las caras laterales del puente están representadas por los pedúnculos cerebelosos medios. Las caras laterales del mesencéfalo presentan dos surcos: uno el surco lateral del mesencéfalo y el otro, el surco interpeduncular. Entre ambos surcos existe una superficie triangular denominada trígono del lemnisco. Por último, la cara posterior que es solo visible al realizar una cerebelotomía, al realizarla podemos encontrar la fosa romboidea. La cara posterior de la médula oblonga presenta una parte inferior y una superior. En la mitad inferior se encuentra el surco medio posterior y sus lados se hallan los cordones posteriores. En la mitad superior se observan los pedúnculos cerebelosos inferiores, entre ellos se extiende el velo medular inferior (Ojeda e Icardo de la Escalera, 2004). (Figura 3).



A. Cara anterior

1. Surco bulbopontino.
2. Surco pontopeduncular.
3. Fisura media anterior.
4. Pirámides del bulbo.
5. Surco anterolateral.
6. Surco Basilar.
7. Pedúnculo cerebral.
8. Fosa interpeduncular.
26. Quiasma óptico.
27. Cuerpos mamilares.

10. Surco posterolateral.

11. Pedúnculos cerebelosos medios.
12. Surco lateral del mesencéfalo.
13. Surco interpeduncular.
14. Trígono del lemnisco.

16. Pedúnculos cerebelosos inferiores.

17. Velo medular inferior.
18. Fosa romboidea.
19. Pedúnculos cerebelosos superior.
20. Velo medular superior.
21. Lámina del techo.
22. Colículo superior.
23. Colículo inferior.
24. Brazo del colículo.
25. Glándula pineal.
28. **Óbex.**

Figura 3. Visión esquemática de las caras anterior (A), lateral (B) y posterior (C) del tronco encefálico. Los nervios craneales se indican con números romanos (Ojeda e Icardo de la escalera, 2004).

El tronco o tallo encefálico posee tres funciones generales: en primer lugar, recibe información sensitiva de las estructuras craneales y controla los músculos de la cabeza. Estas funciones son similares a las observadas en la médula espinal. Los pares craneales, raíces nerviosas sensoriales y motoras que entran y salen del tronco del encéfalo son parte del sistema nervioso periférico y análogos a los nervios espinales. En segundo lugar, el tronco del encéfalo es un conducto para el flujo de la información pues los haces sensitivos ascendentes y motores descendentes viajan a través de dicha estructura. Por último, los núcleos del tronco del encéfalo integran la información proveniente de diferentes orígenes para el estado de alerta y para otras funciones encefálicas altas.

Además de estas tres funciones generales, las diversas divisiones del tronco encefálico cumplen funciones sensitivas y motoras específicas. Por ejemplo, regiones del bulbo raquídeo participan en la presión arterial y en los mecanismos de regulación de la respiración (Snell, 2003). Partes del mesencéfalo y la protuberancia desempeñan una función clave en el control de movimientos

oculares.

La médula espinal, al igual que las estructuras anteriores, es muy similar entre los mamíferos. En un corte transversal se pueden distinguir dos componentes principales: la materia gris en la porción central que corresponde a los somas o núcleos y la materia blanca a su alrededor constituida por las prolongaciones nerviosas (Sebastiani & Fishbeck, 2005).

Tiene como funciones generales controlar los músculos voluntarios del tronco y de las extremidades superiores e inferiores. Se encuentra anclada a la duramadre a través de los ligamentos dentados y se extiende desde el extremo caudal de la médula oblonga hasta el primer segmento vertebral lumbar (Bican et al., 2013). En el gato su extensión puede variar entre los segmentos vertebrales L7 y S2.

El cordón espinal tiene dos ensanchamientos. El ensanchamiento cervical marca el origen de los nervios que corresponden a las extremidades anteriores. A su vez, el ensanchamiento lumbar, el de las extremidades posteriores. El ensanchamiento cervical puede variar entre los segmentos vertebrales C4 a C7 y hasta T1. Caudal a este, el cordón espinal mantiene un diámetro más o menos uniforme hasta el ensanchamiento lumbar. El ensanchamiento lumbar se encuentra entre los segmentos vertebrales L3 a L7, caudal a este segmento el diámetro del cordón disminuye uniformemente terminando en un cordón esbelto conocido como filium terminale. El surco medio posterior es un surco superficial que discurre a lo largo de la línea media dorsal y que junto con la fisura media posterior dividen el cordón en mitades laterales. A su vez cada mitad es subdividida por los surcos laterales anterior y posterior (Sebastiani & Fishbeck, 2005).

La materia gris al ojo desnudo tiene forma de H o de mariposa, a la mitad de dicha H aparece el canal central. La materia blanca se divide en funículos o columnas, marcadas por las fisuras o surcos ya mencionados, por lo que se tiene en cada mitad del cordón una columna blanca anterior, una lateral y una posterior. En la región cervical aparece un surco intermedio entre el surco medio posterior y el surco lateral posterior, dando origen medialmente al fascículo grácil o columna de Goll y lateralmente al fascículo cuneiforme o columna de Burdach.

Las meninges que se mencionaron anteriormente como parte del encéfalo se continúan en la médula

espinal, pero en esta, la duramadre presenta sus particularidades:

1. En el agujero magno se divide en dos capas, una de las cuales recubre el canal vertebral óseo y forma su periostio, mientras que el otro cubre el cordón.
2. Está separado del cordón por un espacio considerable. La duramadre se continua con las vainas fibrosas de los nervios espinales en sus puntos de salida. A lo largo de los lados del cordón está conectada a la piamadre por una delicada hebra de tejido conectivo probablemente equivalente al ligamento dentado que se observa en el humano (Jennings & Reighard, 2012).

En el humano la médula espinal comprende 31 segmentos definidos por 31 pares de nervios raquídeos. Cada nervio raquídeo se forma por unión de una raíz dorsal (sensorial) y una ventral (motora). El primer segmento cervical solo tiene una raíz ventral (Afifi & Bergman, 2005). A diferencia del humano en el gato hay 38-39 pares de nervios espinales: 8 cervicales, 13 torácicos, 7 lumbares, 3 sacros y 7 u 8 nervios caudales.

Cada nervio espinal está constituido por una raíz dorsal y una raíz ventral, que emergen de entre los segmentos espinales adyacentes y se combinan para después divergir hacia sus respectivas áreas de inervación. Las raíces ventrales forman complejos de inervación que se pueden distinguir en regiones llamadas plexos. Se pueden nombrar de manera general como plexo cervical (C1-C5), braquial (C6-T1), torácico (T2-T13) Y lumbosacro (L1-S3) (1). (Figura 4).

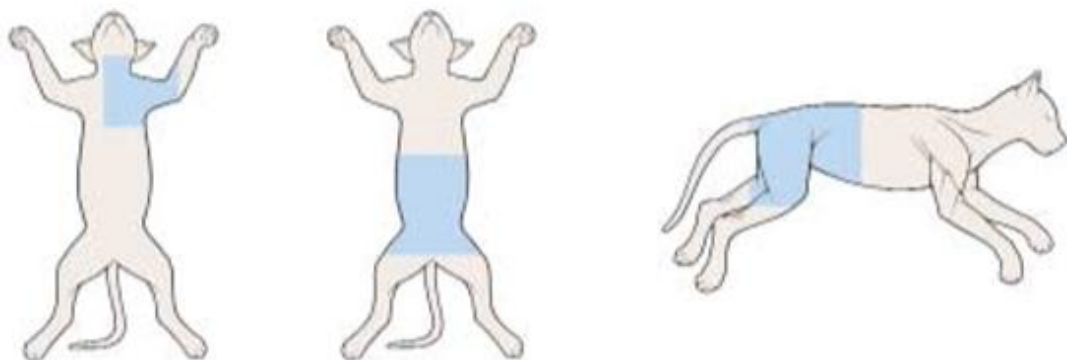


Figura 4. Esquema de la disposición anatómica de los plexos en el gato. Se han combinado el plexo cervical y braquial (izquierda) Plexo lumbosacro con vista ventral (al centro) y plexo lumbosacro con vista lateral (derecha) (Sebastiani & Fishbeck, 2005).

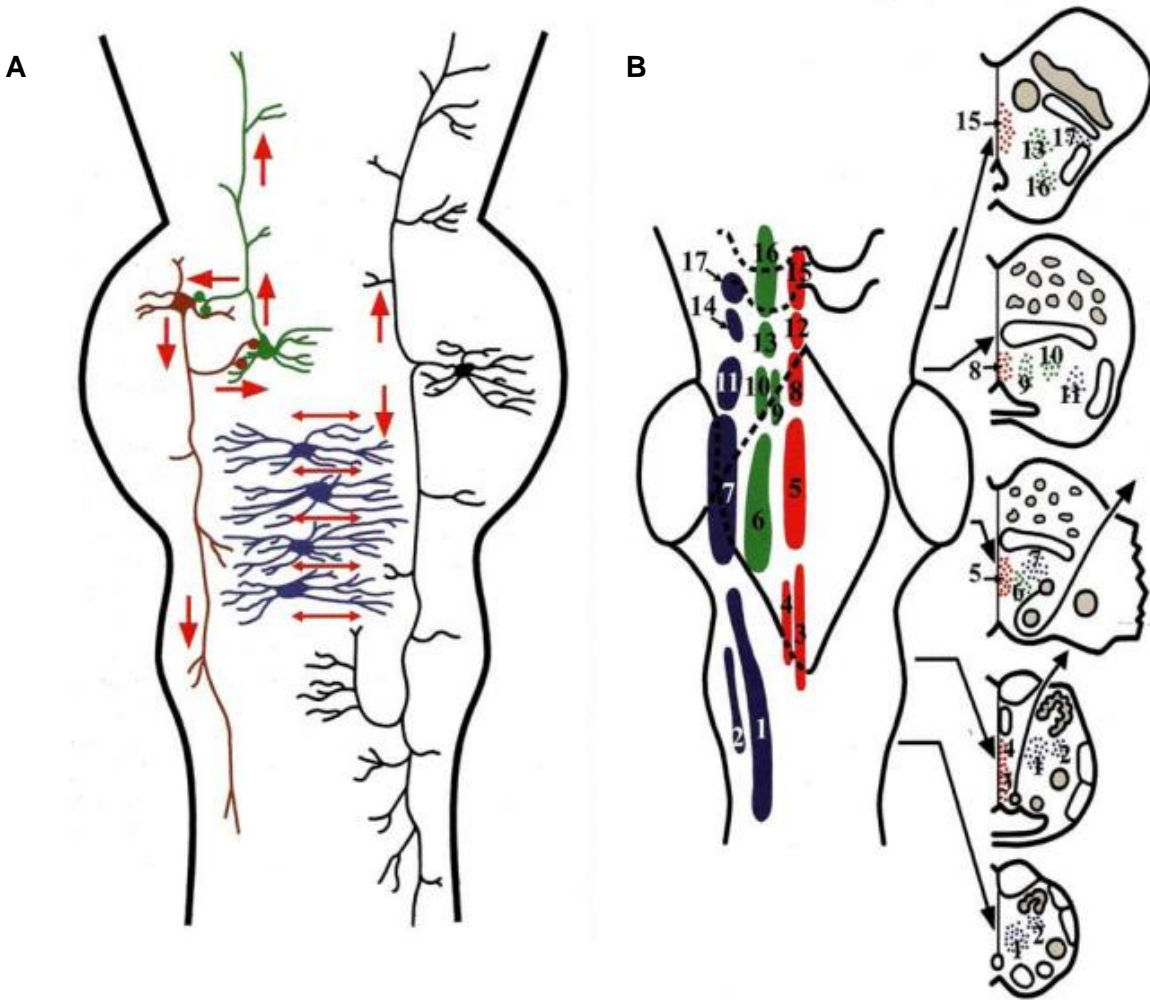
La organización de la médula espinal recuerda a la existente en el encéfalo. En el encéfalo encontrábamos en zonas posteriores áreas dedicadas principalmente a funciones sensoriales. A su vez en porciones ventrales del encéfalo se encuentran áreas dedicadas a funciones motoras. Las astas dorsales de la sustancia gris corresponden principalmente a funciones sensoriales. Mientras que las astas ventrales corresponden a funciones motoras. En la porción media de la sustancia gris se encuentran interneuronas las cuales se sabe participan en circuitos de zonas distales o locales.

3.1.1.3.1 Formación reticular y núcleos de la médula espinal

En el tegmentum mesencefálico comparten espacio núcleos de los pares craneales, tractos nerviosos y grupos de neuronas altamente organizadas, que no se consideran propiamente núcleos. Dichos grupos, son parte de una estructura filogenéticamente antigua, a la que se le denomina formación reticular. Su ubicación, como paso de haces descendentes y ascendentes, la hace participe casi estratégicamente de múltiples procesos. Estos incluyen la regulación del tronco encefálico, de la actividad motora, sensitiva, vegetativa y de los niveles de consciencia. Así, la formación reticular contribuye a la integración de los distintos sistemas a la respuesta global del organismo.

Anatómicamente se puede describir a la formación reticular considerando tres columnas a cada lado de la línea media: medial, intermedia y lateral. (Figura 5). Inmediatamente a la línea media se encuentra la banda medial, también se llamada línea de rafe. Los núcleos reticulares que se encuentran en esta banda reciben el nombre de núcleos del rafe.

La mayor parte de estos núcleos utilizan serotonina como neurotransmisor. La siguiente banda, la intermedia o paramedial se extiende principalmente por el bulbo y el puente, aunque también ocupa la parte baja del mesencéfalo. Está formada por neuronas relativamente medianas y grandes que reciben el nombre de gigantocelulares. En conjunto las neuronas de esta banda forman la mayor parte de las proyecciones ascendentes y descendentes de la formación reticular. Por último, la banda lateral es muy prominente en el bulbo y la porción baja del puente.



- | | | |
|-----------------------------------|---|---|
| 1 N. central del bulbo. | 7 N. central del puente. | 13 N. reticular superior de la protuberancia. |
| 2 N. reticular lateral del bulbo. | 8 N. rafe protuberancial. | 14 N. parabrancial externo. |
| 3 N. oscuro del rafe. | 9 N. protuberancial inferior. | 15 N. rafe dorsal. |
| 4 N. pálido del rafe. | 10 N. reticular de la calota posterior. | 16 N. cuneiforme. |
| 5 N. rafe magno. | 11 N. parabrancial inferior. | 17 Porción compacta del N. de la calota. |
| 6 N. gigantocelular. | 12 N. central posterior. | |

Figura 5. En (A) se observa un corte coronal del tronco encefálico en el que se esquematiza la morfología característica de las neuronas que se sitúan en las distintas bandas del sistema reticular: medial, paramedial y lateral. Las flechas rojas indican la dirección del impulso nervioso. En (B) se observa por transparencia la situación de los principales núcleos de la formación reticular, su ubicación transversal está indicada por las flechas negras. En rojo se indican los núcleos de la banda medial; en verde los de la banda paramedial; en azul los de la banda lateral (Ojeda e Icardo de la escalera, 2004).

Algunos de sus núcleos son acetilcolinérgicos y otros adrenérgicos, entre sus funciones está el control motor orofacial y la regulación de las funciones viscerales relacionadas con el nervio vago (Ojeda e Icardo de la Escalera, 2004).

En la Médula Espinal los distintos grupos de neuronas se encuentran distribuidos de manera transversal. Estos grupos pueden extenderse en toda su longitud o restringirse a ciertos segmentos. En la asta dorsal de la materia gris se encuentran 4 grupos nerviosos: dos se extienden por toda la médula espinal y dos están restringidos a los segmentos torácico y lumbar. El grupo de la sustancia gelatinosa se localiza en el vértice de la asta gris posterior y se extiende por toda médula espinal. Las neuronas de este grupo son principalmente Neuronas de Golgi tipo II. Estas neuronas reciben fibras aferentes relacionadas con el dolor, la temperatura y el tacto. El núcleo propio es un grupo de grandes células nerviosas que se encuentran por delante de la sustancia gelatinosa, recibe fibras de la columna blanca posterior que se asocian con la propiocepción, la discriminación entre dos puntos y la vibración. Al igual que la sustancia gelatinosa este núcleo se encuentra extendido a lo largo del cordón espinal. El núcleo dorsal o de Clark es igualmente un grupo de grandes células nerviosas que reciben aferencias de husos neuromusculares y husos tendinosos, este núcleo está restringido a los segmentos medulares desde C8 hasta L3-L4. Por último, en la porción dorsal de la sustancia gris podemos encontrar de T1 hasta L3 el núcleo aferente visceral el cual tal cual su nombre lo indica, recibe aferencias viscerales (Snell, 2003).

Entre los segmentos T1 hasta L2-L3 se encuentra la porción intermediolateral de la sustancia gris, que se constituye por células nerviosas relativamente más pequeñas que dan origen a las fibras simpáticas preganglionares; Caudalmente entre S2-S4 se encuentra un arreglo similar que da origen a fibras parasimpáticas preganglionares (Snell, 2003).

3.1.1.3.2 Organización citoarquitectónica (Laminas de Rexed)

El esquema propuesto por Rexed, está basado en la examinación de cortes transversales de 100 μm de distintos segmentos de la médula espinal de gatos, bajo la tinción de Nissl. Esta esquematización se basa en las formas, tamaños, densidad y distribución de los somas neuronales. No toma en cuenta la dendroarquitectura ni la lógica sináptica (neurotransmisores implicados). Rexed distinguió 9 capas celulares (láminas) y una décima alrededor del canal central. La mayoría de las láminas se extienden a lo largo de la médula espinal, pero se pueden observar con mayor claridad en las astas dorsales y ventrales de los segmentos correspondientes a las extremidades (Brown, 1981). (Figura 6).

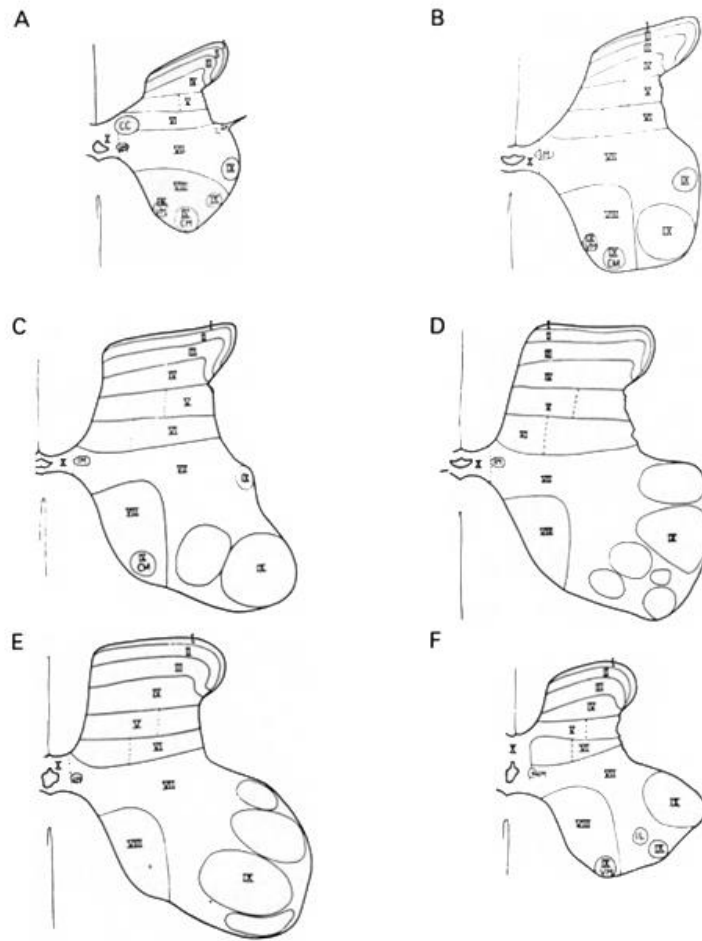


Figura 6. Diagrama que esquematiza la distribución citoarquitectónica descrita por Rexed en distintos segmentos de la médula espinal del gato. (A) Segmentos L4; (B) L5; (C) L6; (D) L7; (E) S1 y (F) S2 (Brown, 1981).

3.1.2 Sistema Motor Somático

De las muy variadas formas que tiene el mundo animal para interactuar con su entorno, hay quien señalaría al comportamiento motor (actuando a través del sistema motor) como la característica más importante de la vida y el comportamiento animal (Hultborn & Nielsen, 2007). Ya hace un siglo, Sherrington (1924) afirmaba: “Mover cosas es todo lo que la humanidad puede hacer. . . pues el único ejecutante es el músculo, ya sea al susurrar una sílaba o al talar un bosque”.

Las células musculares esqueléticas forman los músculos de contracción voluntaria. Estos normalmente están anclados a los huesos mediante los tendones, aunque también hay músculos voluntarios no asociados a huesos. Las células musculares esqueléticas son sincitios. Ellos

permiten el acortamiento de la longitud celular al alinearse con miofibras vecinas que forman haces llamados fascículos, que de igual forma se ven envueltos por una capa de tejido conectivo llamado perimysio. Esta organización a nivel funcional, se traduce en la capacidad de generar una magnitud considerable de fuerza. Esto provoca la contracción muscular, y por ello el movimiento (Figura 7)(Bear, Connors, & Paradiso, 2014).

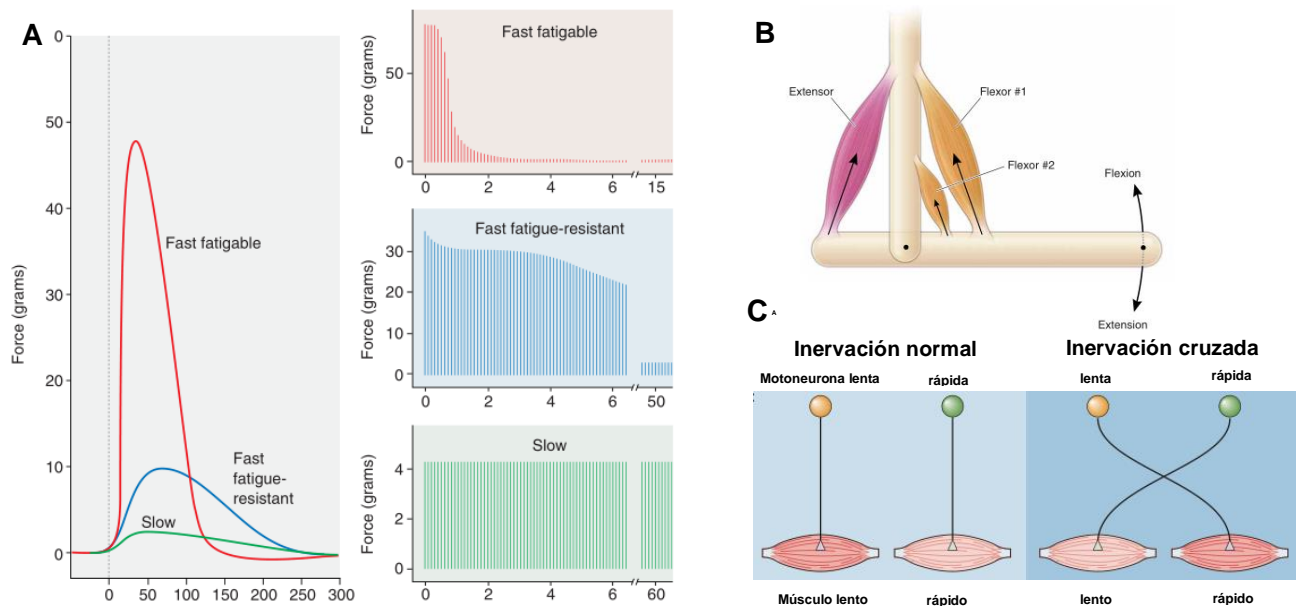


Figura 7. A) Tipos de unidades motoras y sus propiedades contráctiles **B)** Esquema del mecanismo de flexión y extensión de una articulación. Las contracciones de los músculos flexores tiran el extremo derecho del hueso hacia arriba (flexión). La contracción del extensor tira del extremo izquierdo del hueso hacia arriba, haciendo que el extremo derecho gire hacia abajo (extensión). El flexor # 1 y el flexor # 2 hacen sinergia entre ellos y son antagonistas del extensor. **C)** Experimento de inervación cruzada. Forzar a las neuronas motoras lentas a inervar un músculo rápido hace que el músculo cambie para asumir propiedades lentas (Bear, Connors, & Paradiso, 2014).

Las fibras musculares o miofibras son las células de las que se compone el músculo. Su función, indistintamente de su localización en el organismo, es la de generar fuerza o movimiento en respuesta a un estímulo. Por el aspecto y organización de estas, se puede clasificar al tejido muscular en tres tipos: esquelético, liso y cardíaco.

El tejido muscular liso o también denominado involuntario forma la porción contráctil de la pared de diversos órganos tales como tubo digestivo y vasos sanguíneos. Este tipo muscular, así como el subtipo cardíaco están bajo control del sistema nervioso autónomo, siendo esta otra diferencia entre estos y el esquelético. En el tejido cardíaco y esquelético, las células presentan un patrón muy similar de bandas y estrías que se revelan solo al observarse bajo el microscopio (bandas oscuras

manifiestan la superposición de proteínas contráctiles o filamentos de actina y miosina, mientras que, las bandas más claras corresponden solo a filamentos de actina).

El músculo esquelético, ya sea del tipo flexor o extensor, puede variar en su fenotipo. Esto, se traduce en una bioquímica distinta, que deriva en fibras rojas u oscuras o, fibras blancas o pálidas. Las fibras rojas, se caracterizan, por contener una gran cantidad de mitocondrias y enzimas especializadas en el metabolismo dependiente de oxígeno. Lo anterior, se manifiesta en una contracción relativamente lenta, y que se sostiene por largos periodos de tiempo antes de llegar a la fatiga. Los músculos antigravitatorios o que intervienen en la postura son ejemplos de músculos rojos.

En contraste, las fibras musculares blancas, tienen apenas mitocondrias y se valen mayormente del metabolismo anaerobio. Estas características generan músculos que se contraen rápido y se fatigan rápido, típicos en los reflejos de huida. Por lo anterior, a las fibras blancas se les suele denominar rápidas y, a las fibras rojas, lentas. Además, a las fibras blancas o rápidas también se les puede dividir en: resistentes a la fatiga y de fatiga rápida. La diferenciación entre estas células, ocurre muy temprano, durante la embriogénesis, cuando los axones apropiados hacen contacto con las fibras apropiadas. A esta relación entre el SNC (neuronas somáticas o superiores, interneuronas o motoneuronas o neuronas inferiores), y la musculatura responsable tanto del movimiento voluntario como los reflejos, se le conoce como sistema motor somático.

3.1.2.1 Unidades motoras

La comunicación intercelular, fue una pregunta fundamental y sin respuesta hasta pasada la mitad del siglo pasado. Entonces se concluía que las células, y en particular las neuronas, usaban dos modos de transmisión. Tanto modos de transmisión eléctrica directa como modos de transmisión química indirectos (La transmisión eléctrica proporciona continuidad eléctrica directa entre las células mediante las uniones en hendidura, mientras que las químicas comunican dos células gracias a un neurotransmisor químico) (Boron, 2015).

Al sitio o región especializada entre membranas celulares yuxtapuestas, donde ocurren estas transmisiones se le denomina sinapsis. Así a los procesos que subyacen la comunicación intercelular se les denomina transmisión sináptica. Mientras que a los modos de transmisión se les

denomina sinapsis eléctrica o, sinapsis química.

Estas poseen una serie de rasgos morfológicos que las hacen distinguibles entre sí. En las sinapsis eléctricas, seis unidades de proteínas transmembranales idénticas llamadas conexas interactúan formando una estructura conocida como conexón. Cuando los extremos de dos de estas conexiones contactan se forma un canal denominado unión de hendidura. Lo anterior, crea una conexión casi directa de su citoplasma (3 nm entre membrana y membrana). En contraste, la distancia asciende hasta 50 nm en la sinapsis química que ocurre entre el nervio y el músculo en los vertebrados.

En una sinapsis química, la célula responsable de iniciar la transmisión (presináptica), se caracteriza por la presencia de numerosas estructuras esféricas. Una membrana cuyo diámetro oscila entre 40 y 200 nm rodea a dichas estructuras denominadas vesículas sinápticas. El papel de estas es el de almacenar (endocitosis), transportar y proteger las sustancias químicas (neurotransmisores) que eventualmente se liberan al espacio sináptico (Belmar, 2022). Tras la liberación del neurotransmisor desde las vesículas sinápticas al espacio sináptico (exocitosis), este se difunde hasta encontrar con receptores específicos, lo que eventualmente provoca la activación de la célula postsináptica.

En el caso particular de los músculos estriados, los mecanismos de contracción y relajación están regulados por cambios en la concentración del Ca^{2+} libre. Este está conformado por miles de miofibras que varían de 1 a 5 mm de longitud y de 10 a 60 μm de diámetro. La variación tanto en la longitud como el diámetro de las fibras varía en función de la cantidad de proteínas que la conforman. Estas se organizan en series que se repiten y cada serie recibe el nombre de sarcómera. A su vez, las sarcómeras se organizan en series para formar las miofibrillas. Finalmente, las miofibrillas se alinean en paralelo para formar una fibra muscular que es envuelta por una membrana excitable llamada sarcolema. Esta cuenta con regiones especializadas que se caracterizan por presentar extensas invaginaciones conocidas como pliegues postsinápticos. Estas regiones son el lugar donde se genera la sinapsis entre el SNC y el músculo esquelético.

En el músculo estriado, los mecanismos de contracción y relajación están regulados por cambios en la concentración del Ca^{2+} libre. El fenómeno de acoplamiento excitación-contracción representa una comunicación rápida entre los eventos eléctricos que ocurren en la membrana

plasmática o plasmalema y la liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico, la cual lleva a la contracción muscular (Knierim, 2022).

Las motoneuronas o neuronas motoras inferiores son las responsables de inervar directamente al músculo. Los axones y las características generales de las motoneuronas difieren en relación con las fibras que inervan. Por ejemplo, el principio del tamaño establece la existencia de una relación entre el tamaño del soma, y el tamaño del músculo a inervar. Así, una motoneurona con soma grande, suele inervar un mayor número de fibras musculares, si lo comparamos con motoneuronas de soma pequeño (Henneman, 1957). A mayor número de fibras inervadas por motoneurona, mayor tasa de inervación. Así músculos responsables de movimientos “groseros” tienen altas tasas de inervación por somas grandes, mientras que músculos más pequeños, responsables de, por ejemplo, el movimiento ocular, tienen tasas mínimas de inervación por somas pequeños. A esta interacción final (motoneurona-fibra muscular) se le denomina: unidad motora. (Figura 12) (Boron, 2015). Así, el control de la contracción muscular, puede llegar a comprenderse a través del conocimiento de los mecanismos de reclutamiento ejercidos por las unidades motoras en respuesta a diversos estímulos o inputs (Mendell, 2005).

Generalmente, las neuronas pertenecientes a unidades motoras de rápida fatiga son las más grandes, además, dado que sus axones son de mayor diámetro, estas adquieren mayores velocidades de conducción. Las unidades motoras resistentes a la fatiga, también de fibras blancas, tienen neuronas motoras y axones intermedios. Mientras que las unidades lentas tienen axones de menor diámetro y de conducción lenta. En cuanto a su actividad: las motoneuronas rápidas tienden a generar ráfagas de potenciales de acción de 30-60 Hz, mientras que las neuronas motoras lentas se caracterizan por una actividad relativamente constante, de 10-20 Hz (Boron, 2015).

3.1.2.2 El huso muscular

Uno de los principios importantes del sistema motor es que el control motor requiere información sensorial para planificar y ejecutar movimientos con precisión. Este principio se aplica igual a niveles superiores y a los niveles inferiores de la jerarquía, como los reflejos espinales (Knierim, 2022).

La propiocepción es el sentido de la posición del cuerpo en el espacio basado en receptores

especializados que residen en los músculos y tendones. El huso muscular indica la longitud de un músculo y los cambios en la tensión de un músculo.

Los husos musculares son conjuntos de unas 8 a 10 fibras musculares modificadas capaces de contraerse solo en sus extremos. Estas fibras tienen una longitud de 4 a 7 mm, y se encuentran dentro de la propia masa muscular. Funcionan como receptores especializados que señalan la longitud y la tasa de cambio de longitud (velocidad) del músculo. A estas fibras, se les denomina intrafusales., Esto, debido a su ubicación y la forma fusiforme del huso muscular. El resto de las fibras musculares que permiten que el músculo trabaje (que son la mayoría), se denominan extrafusales. Cada músculo contiene muchos husos musculares; estos se distribuyen igual en flexores y extensores, y su concentración es mayor en músculos que actúan en la ejecución de movimientos finos.

Al microscopio se reconocen dos tipos de fibra dentro de la cápsula del huso, las fibras de bolsa nuclear y, las fibras de cadena nuclear. Estas cuentan con receptores ubicados en sus regiones centrales, conocidas como terminaciones primarias. Además, algunas fibras de bolsa nuclear y todas las fibras de cadena nuclear contienen terminaciones secundarias.

El huso muscular posee tanto inervación sensorial como motora. La inervación sensorial, está representada por fibras Ia o anuloespirales y del grupo II o secundarias. Los termino alfa, beta y gama son usados para describir el “suministro” motor que brindan las motoneuronas a las fibras extrafusales e intrafusales que les permite la contracción. Los axones alfa inervan únicamente a fibras musculares esqueléticas, mientras que las fibras gamma suministran únicamente a los husos musculares (Costa et al., 2020). La estimulación del huso muscular tiene lugar cuando el huso se estira, lo que deforma las fibras intrafusales y estimula las fibras primarias o Ia, que detectan la velocidad del estiramiento, y las fibras secundarias o II, que perciben la magnitud del cambio de longitud (Fernandez, 2011).

3.1.2.3 Reflejos espinales

Sr. Charles Sherrington, pionero de la fisiología motora a principios del siglo XX proponía a los reflejos como las unidades básicas del movimiento. En la actualidad sabemos que los reflejos son adaptativos lo que permite su incorporación en movimientos complejos (Kandel et al., 2000).

Un reflejo se puede definir como una respuesta muscular estereotipada a un estímulo sensorial específico. Estos son el resultado de conexiones cableadas que son iguales en todos los seres humanos y en la mayoría de los mamíferos (Feher, 2012).

Los reflejos constan de cinco componentes básicos involucrados en la respuesta fisiológica: receptores, neuronas sensitivas, interneuronas, neuronas motoras y órganos diana (Costa et al., 2020). Las neuronas aferentes entran al sistema nervioso central por medio de las raíces dorsales espinales o los nervios craneales, y tienen su cuerpo celular en los ganglios de la raíz dorsal o en los ganglios homólogos para los nervios craneales. Las fibras eferentes salen del sistema nervioso central por medio de las raíces ventrales espinales o nervios craneales motores correspondientes.

La actividad en el arco reflejo (que es la unidad básica de la actividad refleja), empieza en un receptor sensorial con un potencial generador cuya magnitud es proporcional a la fuerza del estímulo. Esto genera potenciales de acción de todo o nada en el nervio aferente. En el SNC, las respuestas de nuevo son graduadas en términos de potenciales postsinápticos excitadores (EPSP) y potenciales postsinápticos inhibidores (IPSP) en las uniones sinápticas. Se generan respuestas de todo o nada en el nervio eferente., Cuando éstas llegan al órgano efector, de nuevo establecen una respuesta graduada. Cuando el efector es músculo liso, las respuestas se suman para producir potenciales de acción, pero cuando el efector es músculo esquelético, la respuesta graduada es adecuada para producir potenciales de acción que desencadenan contracción muscular. La actividad dentro del arco reflejo es modificada por las múltiples aferencias que convergen en las neuronas eferentes o en cualquier estación sináptica dentro del asa refleja (Fernandez, 2011).

3.2 Antecedentes específicos

3.2.1 Rascado Ficticio en el gato

El rascado es un reflejo espinal, cuyo desencadenante, es la estimulación del campo receptivo, que incluye el meato auditivo, la piel que recubre la convexidad formada por la concha de la púa y sus bordes. (Figura 8) (Sherrington, 1917). Experimentalmente el reflejo se logra con apenas un suave toque de algún objeto con extremo fino o incluso la punta del dedo, así, el frotamiento provoca un reflejo más poderoso.

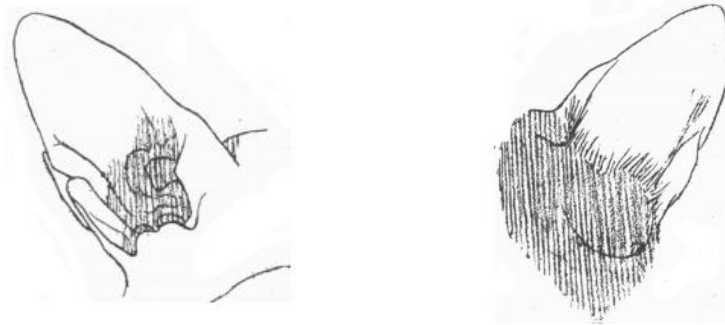


Figura 8. Vista frontal y posterior del campo receptivo del reflejo de rascado. La extensión del campo receptivo se muestra en cada caso mediante el área sombreada con líneas (Sherrington, 1917).

El rascado se divide en tres fases: La primera fase, de acercamiento corresponde a la preparación de la extremidad pélvica que el gato empleará durante el rascado, la cual se aproxima a la región con prurito mediante la contracción de músculos flexores de cadera, rodilla y tobillo. La fase cíclica se divide a su vez en tres fases: extensora, intermedia y flexora, esta fase es generada por la inhibición recíproca entre los músculos flexores y extensores que realizan la tarea motora. Finalmente, en la fase de retirada, la extremidad regresa a la posición previa al rascado. Sherrington (1917) describió la fácil evocación del rascado aún después de cortar todas las aferencias, a excepción del vago. La respuesta dada bajo estas condiciones, comúnmente denominada “rascado ficticio”, sugería que el mecanismo neuronal necesario se localiza en la médula espinal.

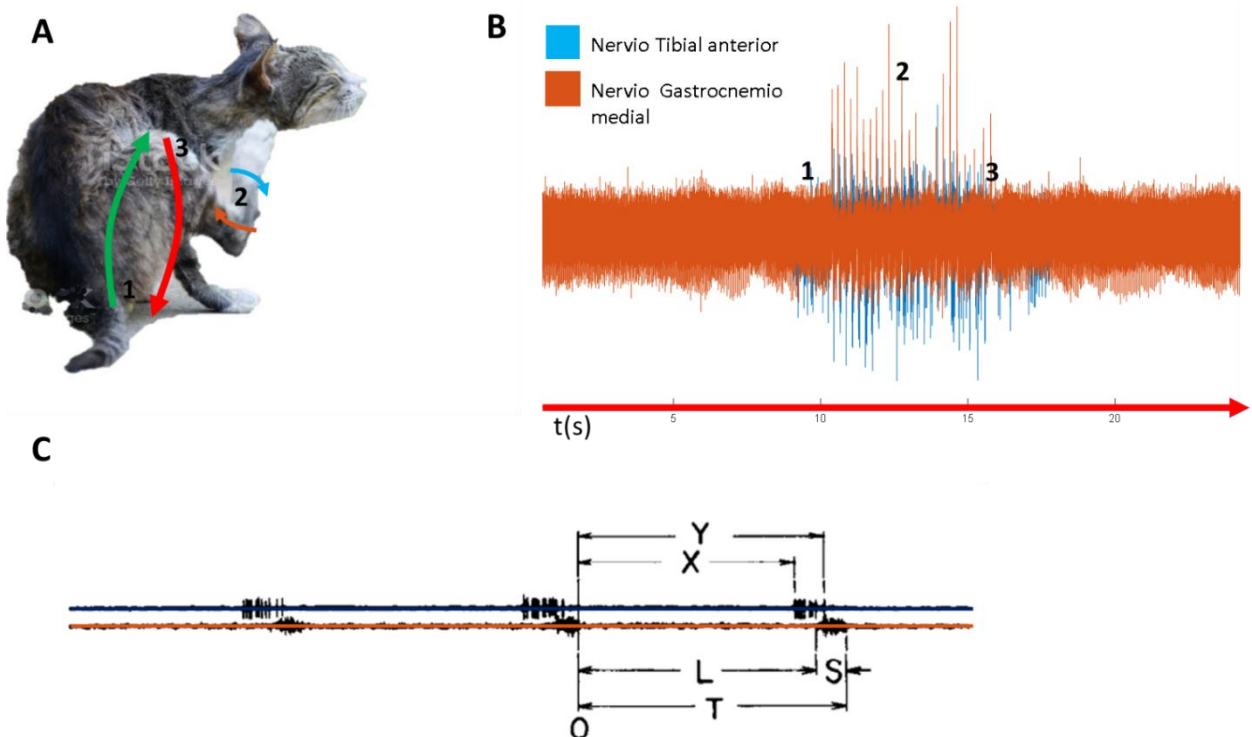


Figura 9. Reflejo de rascado en el gato. **(A)** Fases del rascado ficticio. (1) Acercamiento o fase tónica; (2) Fase alternante o cíclica; (3) Retirada. **(B)** Electroneurogramas superpuestos correspondientes a los nervios gastrocnemio medial (gm) y tibial anterior (ta) o extensor y flexor. **(C)** Fases de la fase alternante (24). Considerando que el ciclo comienza cuando la fase extensora termina, la fase alternante tiene una duración promedio de 250ms por ciclo (fase flexora de 200 ms y extensora de 50ms). Las letras indican: Comienzo del ciclo (O) o termino de actividad del eferente extensor (gl); (T) Duración del ciclo; (L) Fase flexora; (S) Fase extensora; (X) Burst Onset; (Y) Terminación del burst. El registro superior corresponde a una interneurona “en ritmo” con el rascado. El registro inferior corresponde a la actividad del nervio gastrocnemio lateral (gl) durante el rascado ficticio. Considerando que el ciclo comienza cuando la fase extensora termina, la fase alternante tiene una duración promedio de 250 ms por ciclo (fase flexora de 200 ms y extensora de 50 ms) (Berkinblit et al., 1978; Aoki & Mori, 1981).

3.2.2 Redes neuronales y Generadores Centrales de Patrones (GCP)

Correr, caminar, gatear o nadar, son ejemplos de comportamiento motor rítmico y estereotipado. Durante el siglo pasado tuvieron lugar dos teorías acerca del origen de esta actividad rítmica. Por un lado, estaban los que apuntaban que la actividad se generaba a partir de una serie de reflejos, mientras que otros que la actividad era generada por redes de neuronas o “neuronas osciladoras centrales”. Dichas redes neuronales consisten en grupos de interneuronas que integran la información proveniente de niveles superiores del sistema nervioso central, aferencias periféricas, así como de otras interneuronas o motoneuronas específicas. Al existir y funcionar los elementos mencionados, grupos de motoneuronas son activadas con mayor o menor precisión. Históricamente los experimentos llevados a cabo en distintos modelos (Wilson, 1961; Weeks, 1981; Wallén & Williams, 1984) han probado que estas redes neuronales cuentan con los elementos necesarios o “bloques de construcción” (Gettling, 1989). Estos bloques expresan patrones motores básicos en ausencia de aferencias periféricas o centrales superiores. La actividad rítmica presente en las mencionadas redes neuronales es producto de células particulares con ritmo endógeno o “marcapaso”. Esto se traduce en neuronas generadoras de ráfagas rítmicas de potenciales de acción (burst). Los burst persisten aún tras la eliminación quirúrgica o farmacológica de las aferencias correspondientes (Weimann & Marder, 1994).

3.2.2.1 Generador Central de Patrones del rascado ficticio

El primer modelo de un generador central de patrones fue propuesto por Brown en 1914. Este modelo incluía dos hemicentros (flexores y extensores) de actividad inhibitoria recíproca. Según el, las interacciones debían ser mediadas por interneuronas inhibitorias. La actividad de las interneuronas actividad se vería reducida gradualmente debido a algún mecanismo de fatiga o

adaptativo. Esto aseguraría que solo un hemicentro pudiera estar activo a la vez. El modelo de Brown además sugería una proyección directa de cada hemicentro a sus respectivas motoneuronas extensoras y flexoras. El concepto clásico de hemicentro propuesto inicialmente por Graham Brown y Lundberg representa solo una organización general simplificada de los generadores centrales de patrones y no puede reproducir y explicar muchas características del patrón locomotor real generado en la médula espinal de los mamíferos.

En tiempos recientes Grillner et al. (1998) propusieron la existencia de módulos ritmogénicos separados o “unidades generadoras de ráfagas”, que, interactúan entre sí como osciladores neuronales acoplados para controlar cada articulación de una extremidad. A su vez McCrea & Rybak (2008) mediante un modelo computacional incorporan interacciones entre el generador central de patrones, otros circuitos espinales y entradas aferentes. El modelo muestra un generador central de patrones relativamente simple. En él, la locomoción es iniciada por un impulso excitador tónico (región locomotora mesencefálica). Cuenta con redes generadoras de ritmo y formadoras de patrones separadas. Además, reproduce de manera realista muchos fenómenos experimentales que incluyen deleciones espontáneas de la actividad de las motoneuronas y variedad de efectos de la estimulación aferente (McCrea & Rybak, 2008).

Recientemente se ha logrado la identificación genética de distintos tipos de neuronas, con base en ello Rybak et al., (2015) proponen un modelo actualizado que incluye Generadores de patrones izquierdo y derecho, interactuando vía distintas clasificaciones de neuronas comisurales (V0_D, V0_V, V3) y neuronas de proyección ipsilaterales (V1, V2a, V2b). (Figura 10).

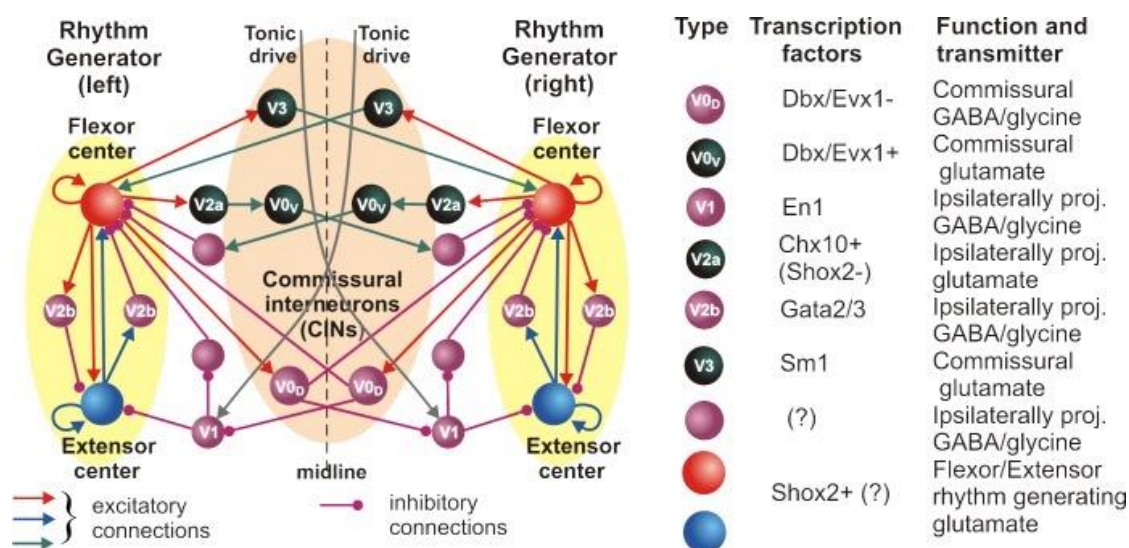


Figura 10. Modelo del generador central de patrones para la locomoción en el gato (Rybak, et al., 2015).

3.2.2.2 Influencias supraespinales

En experimentos llevados a cabo hace más de un siglo por Sir Charles S. Sherrington en perros y gatos descerebrados, la estimulación eléctrica y mecánica de la piel provocó movimientos repetitivos, estereotipados y automáticos de cadera y rodilla que produjeron pasos rudimentarios. Sherrington notó, que el ritmo de la respuesta era altamente modificable por la retroalimentación periférica, por lo que en su momento se apoyó la hipótesis de que el comportamiento motor que presentan los animales era de origen “periférico”. Como ya se mencionó antes, fue Brown quien mediante variantes en los pioneros experimentos de su maestro Sherrington, dejó en manifiesto que en la médula espinal de los mamíferos existen los elementos necesarios para llevar a cabo ciertos comportamientos motores. A mediados de siglo, con la llegada de técnicas como la fijación de membranas o Patch clamp se logró demostrar principios propuestos por Sherrington y Brown como la hipótesis de los hemicentros. Este avance del conocimiento del sistema nervioso a nivel celular no logro dilucidar los mecanismos de integración que subyacen a el inicio, desarrollo y terminación de un comportamiento motor. Sin embargo, recientemente han surgido nuevas investigaciones en torno al mecanismo por el cual, zonas tales como la región locomotora mesencefálica, el núcleo cuneiforme o el núcleo pedunculopontino generan la activación de generador central de patrones de la médula espinal. Más aún se han identificado poblaciones de interneuronas formando circuitos que al ser estimuladas pueden generar o modular la respuesta motora. La fotoestimulación de neuronas GABAérgicas de la región locomotora mesencefálica suprimen la locomoción. Por el contrario, la activación de neuronas glutamatérgicas (vGluT2), en particular del núcleo cuneiforme, conduce a una latencia corta. El núcleo cuneiforme se proyecta a las áreas locomotoras del tronco cerebral caudal, hacia la formación reticular, y directamente a la médula espinal (Araki et al., 1976; Jankowska et al., 1979; Liang et al., 2012; Kiehn, 2016; Traven et al., 1993; Sharma et al., 2019).

3.2.2.3 Neuronas ON-OFF y OFF-ON

Tapia et al. (2013) presentaron por primera vez la caracterización de poblaciones de neuronas productoras de potenciales eléctricos “premovimiento” ((Potencial lento del Óbex (PLO) o Óbex Slow Potencial (OSP)), con una ocurrencia de $0,8 \pm 0,4$ segundos antes del inicio de un episodio de rascado ficticio. (Fig. 11).

La neurona de la formación reticular mostrada en la figura anterior corresponde a las llamadas OFF-ON. Neuronas que como se observa, presentan una activación o aumento de la actividad que se corresponde con el inicio del rascado ficticio (fase de alternancia). En este trabajo también describen otro grupo de neuronas, las ON-OFF. Estas son poblaciones que exhiben la actividad contraria a las anteriores. Ante tales resultados los investigadores sugirieron que las neuronas caracterizadas asociadas al PLO debían a su vez pertenecer a un sistema de activación reticular (SAR) descendente.

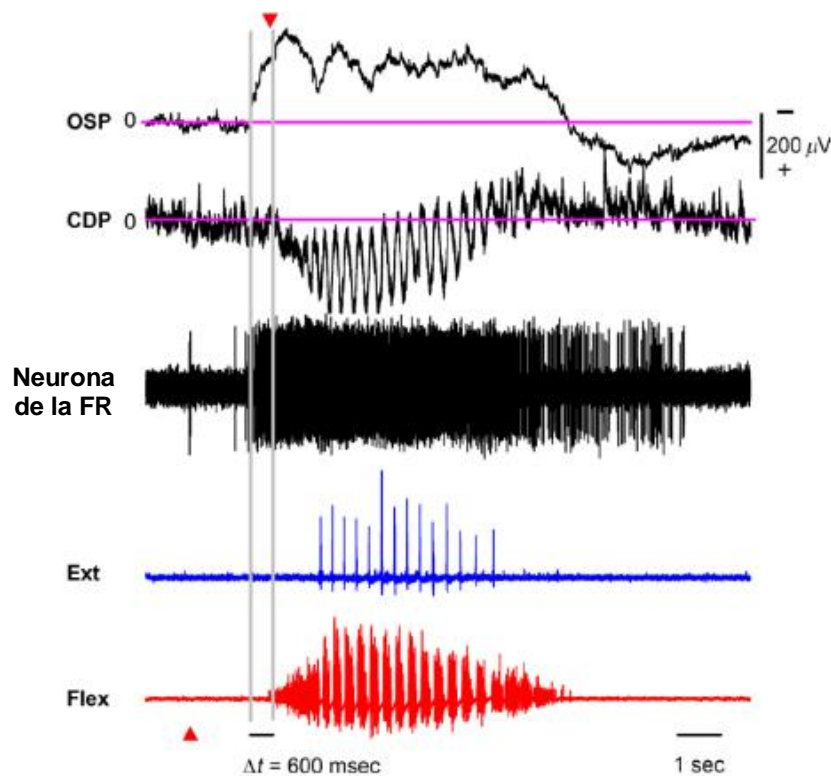


Figura 11. Registro extracelular de una neurona de la formación reticular (FR) durante un episodio de rascado ficticio. La traza superior corresponde al registro de potenciales de campo (PLO) obtenido en la vecindad del óbex. El siguiente trazo muestra un registro eléctrico de la superficie de la médula espinal en el nivel L6 (el Cord Dorsum Potential, CDP). El trazo negro inferior es el registro unitario extracelular de la neurona de la FR. Los Electroneurogramas se indican con un trazo azul para el extensor (Ext) y un trazo rojo para la actividad del flexor (Flex) (Tapia et al. 2013).

Cuellar et al. (2014; 2018) afianzan la hipótesis al probar, primero, que los CDPs que ocurren en sincronía con los episodios de rascado ficticio no tienen una sincronía con los observados durante la actividad espontánea. Sugiriendo que las poblaciones neuronales implicadas en un caso u otro no se asocian entre sí. Es decir, las neuronas que presentan actividad en ritmicidad con la actividad

espontánea no pertenecen al generador central de patrones de la región lumbo-sacra de la médula espinal. En segundo lugar, lograron identificar poblaciones neuronales que exhiben actividad similar a la reportada anteriormente.

4 Planteamiento del problema

En trabajos previos se reportaron grupos de neuronas ubicadas tanto en la formación reticular (Óbex) como en la médula espinal denominadas ON-OFF y OFF-ON que se presume están implicadas en la generación del rascado ficticio en el gato. No obstante, no se ha estudiado en detalle la correlación entre las neuronas mencionadas en estos dos puntos distantes del Sistema Nervioso Central. ¿Existe una correlación funcional y temporal entre estas poblaciones neuronales?

5 Objetivos

5.1 Objetivo general

Realizar un análisis exhaustivo de las correlaciones entre neuronas de la formación reticular y médula espinal antes, durante y después de la ejecución del rascado ficticio.

5.2 Objetivos particulares

Detectar y clasificar potenciales de acción neuronales que serán registrados antes, durante y después de la ejecución del rascado ficticio de manera simultánea tanto en la formación reticular como en la médula espinal.

Calcular la correlación cruzada entre pares de neuronas de la formación reticular y médula espinal antes, durante y después de los episodios de rascado ficticio, con la intención de filtrar aquellas con las latencias más bajas.

Realizar un análisis de la secuencia temporal entre pares de neuronas, con la finalidad de generar un conectoma a nivel poblacional de los dos puntos anatómicos estudiados.

6 Material y Métodos

6.1 Diseño del estudio

Estudio experimental básico.

6.1 Ubicación espacio-temporal

Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla con dirección en 14 Sur No. 6301, Col. Jardines de San Manuel, C.P. 72570, Puebla, Puebla.

6.2 Estrategia de trabajo

De manera general el trabajo consta de tres etapas: experimentación, la construcción e implementación de código para el análisis semiautomatizado y la representación gráfica (conectoma) de la información relevante obtenida sobre la interacción entre los dos puntos anatómicos estudiados.

6.3 Muestreo

6.3.1 Definición de la unidad de población

Animales de sexo indistinto comprendido en un rango de peso entre 2.25 kg a-5.2 kg, sin ningún registro previo de enfermedades neurológicas provistos por el bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los experimentos cumplieron con los lineamientos para el cuidado y uso de animales de laboratorio estipulados en el NIH y en la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999.

6.4 Técnicas y procedimientos

6.4.1 Procedimientos quirúrgicos generales

El gato se colocó en una caja de inducción de anestesia, la cual recibe una mezcla de gases

(Isoflurano 2% y O₂ 98%). El gas fue capturado a su salida por un sistema de filtración (scavenger). Una vez anestesiado se procedió a colocar al animal en la mesa de cirugía, no sin antes verificar el estado de reactividad mediante la aplicación de estímulos dolorosos (en este punto los valores de la anestesia se ajustaron de acuerdo a los procedimientos quirúrgicos que se describen a continuación). Se realizaron tres canulaciones con orden indistinto, que son: canulación vesical (de orina), canulación de la carótida primitiva izquierda o derecha (control de presión sanguínea) y canulación de la vena radial anterior izquierda o derecha (para la administración de fármacos y el restablecimiento de líquidos). Una vez se realizó la canulación de alguna de las arterias carótidas primitivas se ligó parcialmente la arteria carótida contraria, esto para ocluir el flujo sanguíneo (paso necesario para la descerebración). Una vez realizado lo anterior se procedió con la traqueotomía, (necesaria para mantener el sistema de anestesia y la asistencia respiratoria una vez retirada la mascarilla). Se realizó la disección de los nervios gastrocnemius medial y tibial anterior de una de las extremidades posteriores. Se cubrieron con algodón y solución fisiología para evitar la desecación. Los segmentos de la médula espinal lumbo-sacra (L3-L7) fueron expuestos mediante laminectomía. Posteriormente se colocó al gato en un aparato estereotáxico y fue fijado al mismo. (Narishige, Japan). Se realizaron pocetas llenas con aceite mineral. Seguido a esto se practicó una craneotomía y descerebración precolicular-postmamilar (se cubrió la cavidad con material hemostático y solución agar). Con el fin de exponer la zona del Óbex se ejecutó una laminectomía sobre los segmentos vertebrales C1-C2 y descerebelación. Finalmente se suspendió la anestesia, y se conectó al gato a un ventilador artificial (Ugo Basile) a una frecuencia de 15-18 ventilaciones por minuto y se paralizó mediante la administración de bromuro de pancuronio (0.8 mg/ hr) vía intravenosa.

6.4.2 Producción del reflejo de rascado

Se colocó una torunda ligeramente empapada con D-tubocurarina (10mg/1mL) en la zona descubierta por la laminectomía a nivel de los segmentos vertebrales C1-C2, posteriormente se estimuló la región del pabellón auricular (pina) o sobre la región peri encefálica

6.4.3 Métodos de registro electrofisiológico

Una vez terminados los procedimientos quirúrgicos se procedió a determinar las zonas de mayor actividad mediante electrodos de superficie tanto en la zona del Óbex (Potencial lento del Óbex)

como en la región lumbo-sacra de la médula espinal (Potencial del dorso de la médula espinal). A continuación, se retiró la duramadre en las zonas determinadas por el paso anterior y fueron introducidos los microelectrodos para el registro de la actividad extracelular multiunitaria.

Se registro la actividad de los nervios de la extremidad posterior a través de Electroneurogramas.

Se realizaron los registros de superficie con electrodos monopares de Ag-Cl; Para realizar los registros de actividad extracelular multiunitaria se utilizaron dos matrices de 5 microelectrodos cada una, de cuarzo-platino-tungsteno (Thomas Recording Minimatrix microelectrodes manipulation system - TRec®); y para realizar los Electroneurogramas se utilizaron dos electrodos bipolares de Ag-Cl.

La determinación de la zona de mayor actividad de la médula espinal se obtuvo mediante un sistema adaptado de electroencefalograma con 32 canales (Neuroscan®), una vez identificado se colocó un electrodo de superficie para localizar el potencial del dorso de la médula espinal. Se colocó el extremo distal de cada nervio disecado colgando sobre el par de filamentos de cada electrodo bipolar para poder registrar mediante los Electroneurogramas la actividad flexora y extensora durante el rascado ficticio. Una vez identificadas el área a registrar se comenzó con la búsqueda de actividad eléctrica penetrando lentamente las zonas de interés. La captura de los registros se realizó con el software Axoscope 8.0® (Axon Instruments®) dejando un tiempo previo y posterior al evento de la tarea motora, procurando mantener una ventana temporal de aproximadamente de 60 segundos.

6.4.4 Análisis de datos

6.4.4.1 Segmentación

Se verificó en cada registro si se presentó rascado ficticio y si este fue “aceptable” o “indefinido”. Significando indefinido que la señal fue indistinguible del ruido o su tiempo de inicio o final no se pueden determinar. Para los casos aceptables se obtuvo los tiempos de inicio del rascado (TI), tiempo del final del rascado (TF), duración del rascado ($\Delta t = TF - TI$), siendo Δt la duración de cada segmento. (Fig. 12). (Anexo 1).

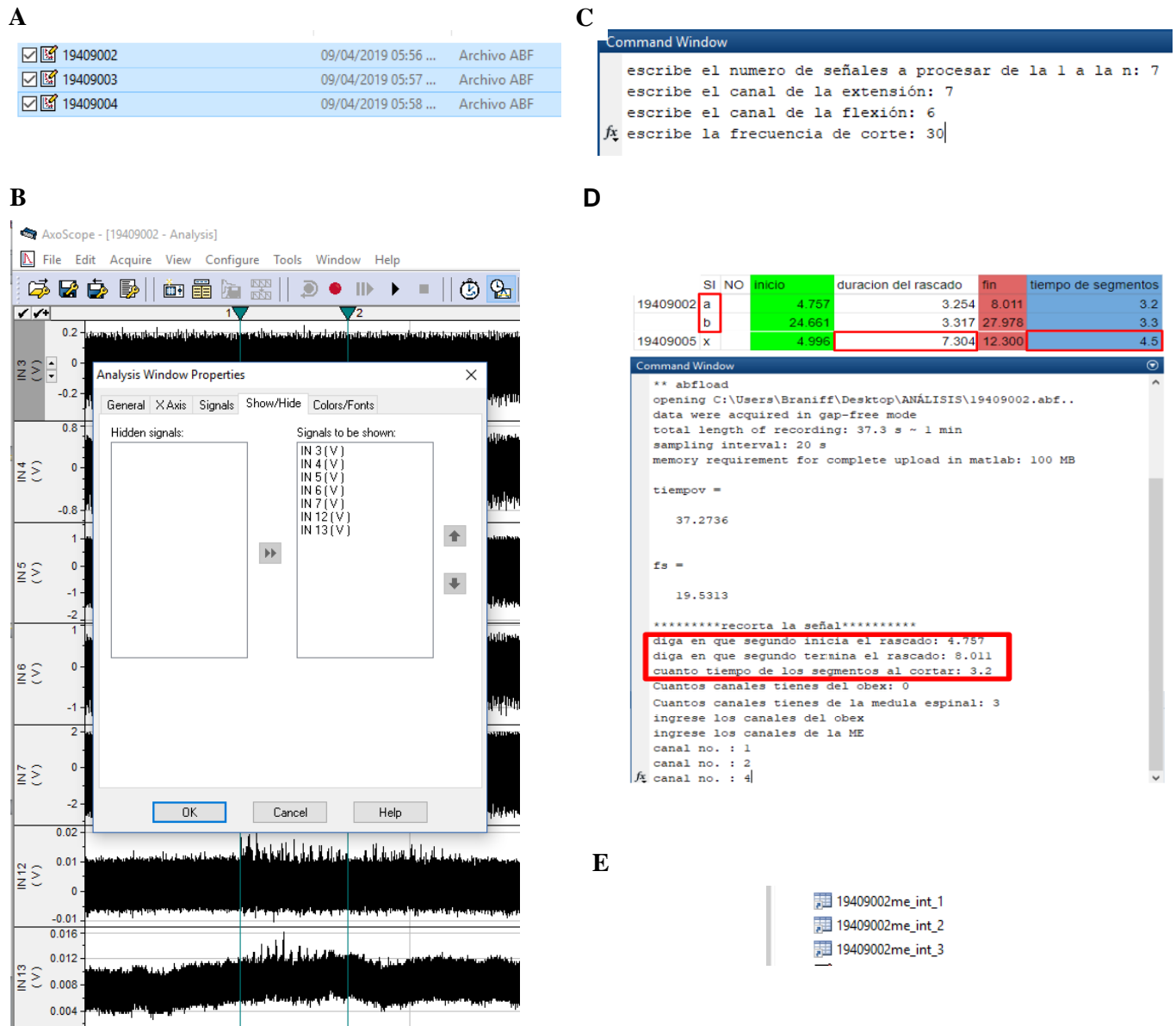


Figura 12. Segmentación. El algoritmo se ejecuta al llamar la función “selector” (Anexo1). **A)** Input (selección múltiple de registros en formato ABF). **B)** Ejemplo del contenido de los registros en crudo, abajo se observan los canales que corresponderían al registro de la actividad del nervio tibial anterior y gastrocnemio medial. **C)** La función pedirá el número de señales que contienen los registros seleccionados, así como introducir los canales que corresponden al registro de los nervios efectores. **D)** A continuación pedirá que se ingrese el tiempo del inicio y final del rascado ficticio, esta operación se repite para cada archivo ABF seleccionado. **E)** Output. Cada señal segmentada se guardará en una matriz de Matlab que indique su origen y el número de electrodo al que corresponde.

6.4.4.2 Spike sorting y cálculo de envolvente

Es un método altamente utilizado para el análisis de registros extracelulares multiunitarios, en el

cual básicamente se separa la señal ruidosa de la actividad proveniente de neuronas, después el mismo programa ofrece una clasificación a los picos detectados. En este caso utilizamos el software “Wave Clus” para procesar los archivos generados en la segmentación. Este es un algoritmo que se ejecuta bajo el lenguaje de MATLAB rápido y de poca supervisión que ofrece una clasificación basada en la morfología de los potenciales de acción (Quiroga et al., 2004). (Fig. 13).

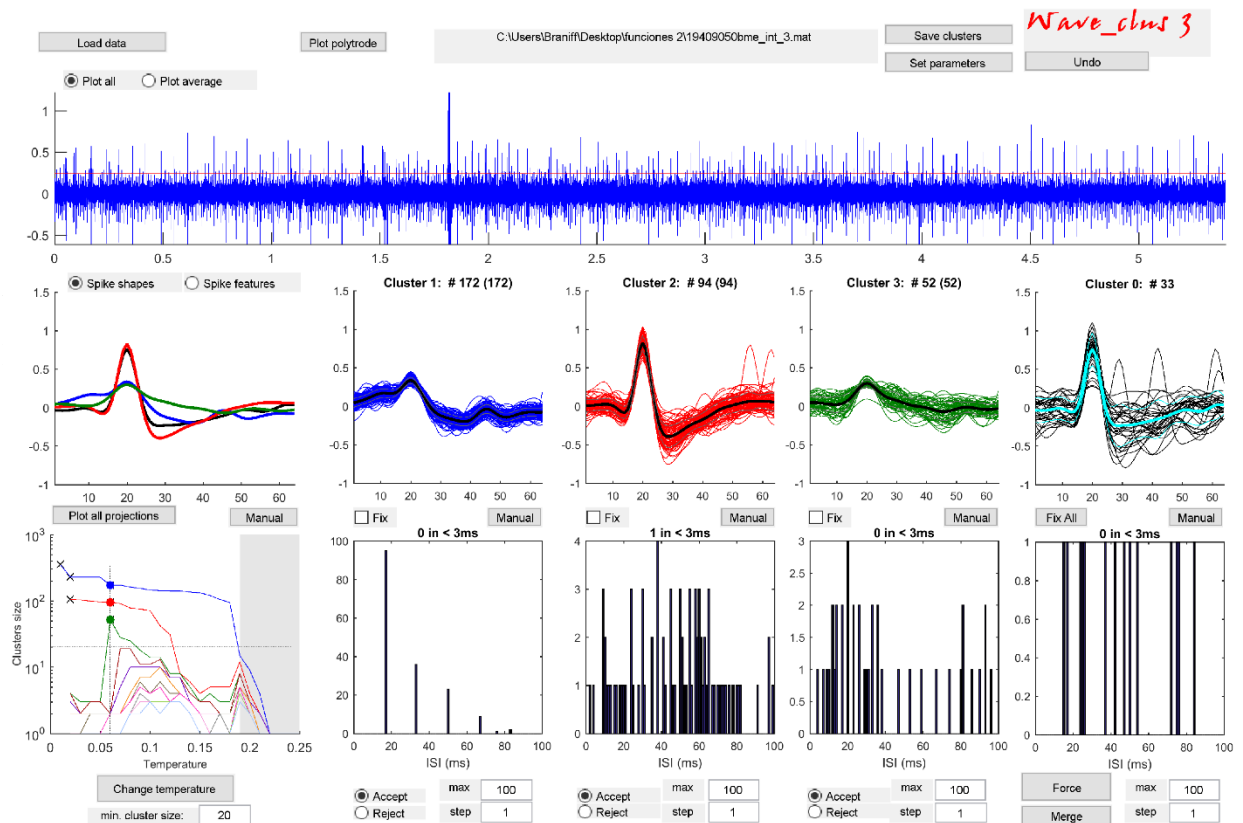


Figura 13. Interfaz de WaveClus.

Seguido al agrupamiento, realizamos el cálculo de envolvente mediante la función “AddActionPotentials” (Anexo 2). Esta integra trapezoidalmente, filtra y rectifica las señales obtenidas por Waveclus.

6.4.4.3 Rastros de actividad y clasificación

Mediante la función “normaliza” (Anexo 3) obtuvimos el rastro de actividad normalizada, a la vez que se clasificó a las neuronas según la actividad exhibida alrededor del inicio y final del rascado ficticio (Fig. 14).

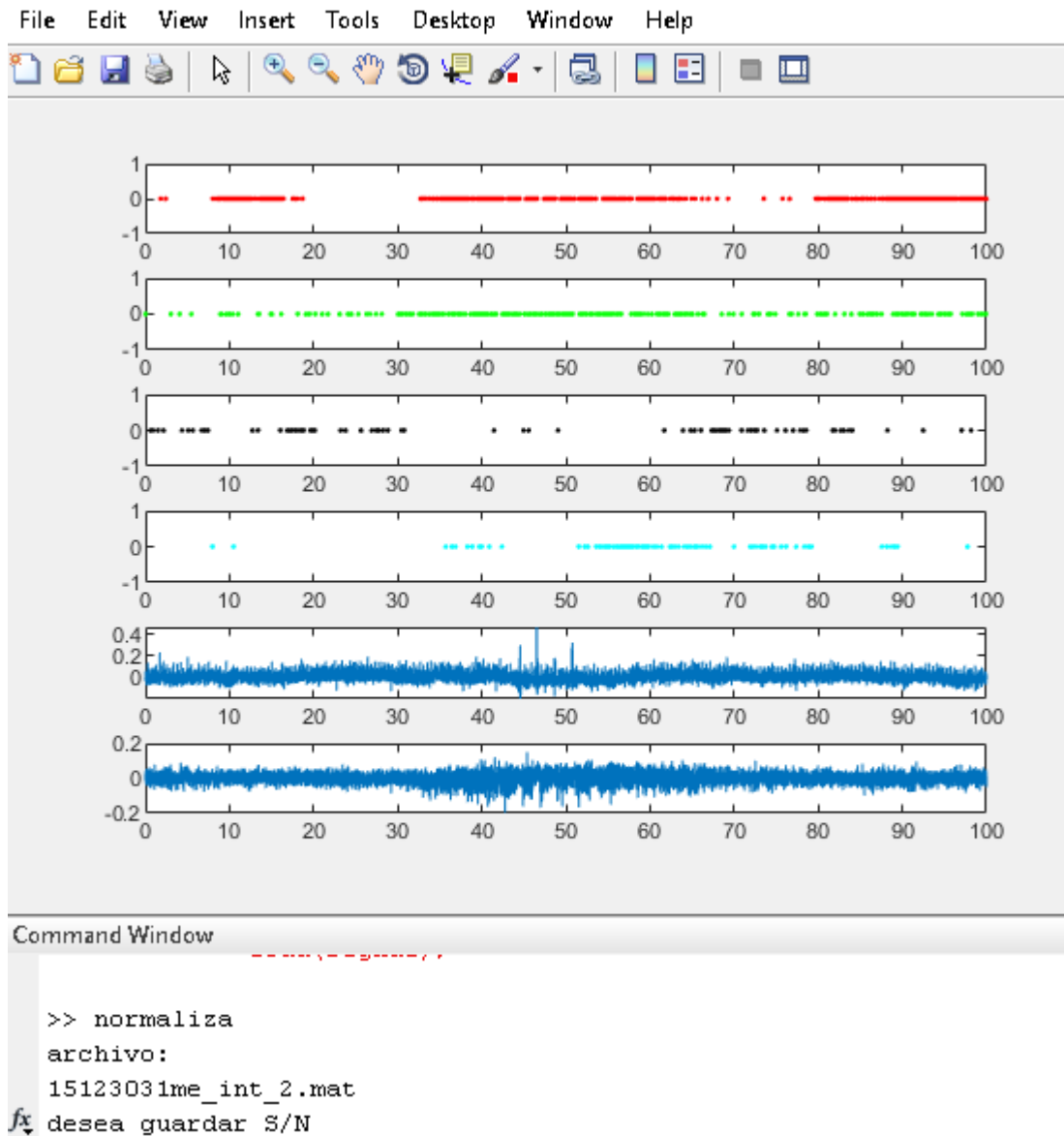


Figura 14. Interfaz de la función “normaliza”. Se muestran los rastros de actividad de cuatro neuronas distintas alrededor de un evento de rascado ficticio.

6.4.4.4 Correlación cruzada y análisis de su significancia estadística

Calculamos la correlación cruzada entre pares de neurona de la médula espinal y óbex mediante la función “autocor” (función personalizada de la función “corr” que ofrece MATLAB) (Anexo 4).

Una correlación es significativa cuando el valor absoluto es mayor que $\frac{2}{\sqrt{n - |k|}}$ donde n es el número de observaciones y k es el retraso o lag. Cuando $r_{xy}(k)$ tiene una distribución normal o aproximadamente normal, esta suele tener de media (μ) cero y desviación estándar

$(\sigma) 1/\sqrt{n - |k|}$ Con lo anterior en mente, dado que aproximadamente el 95% de una población normal está dentro de 2 desviaciones estándar de la media, una prueba que rechaza la hipótesis de que la correlación cruzada poblacional del retraso k es igual a cero cuando $[r_{xy}(k)]$ es mayor que $\frac{2}{\sqrt{n - |k|}}$ tiene un nivel de significancia (α) de aproximadamente el 5%

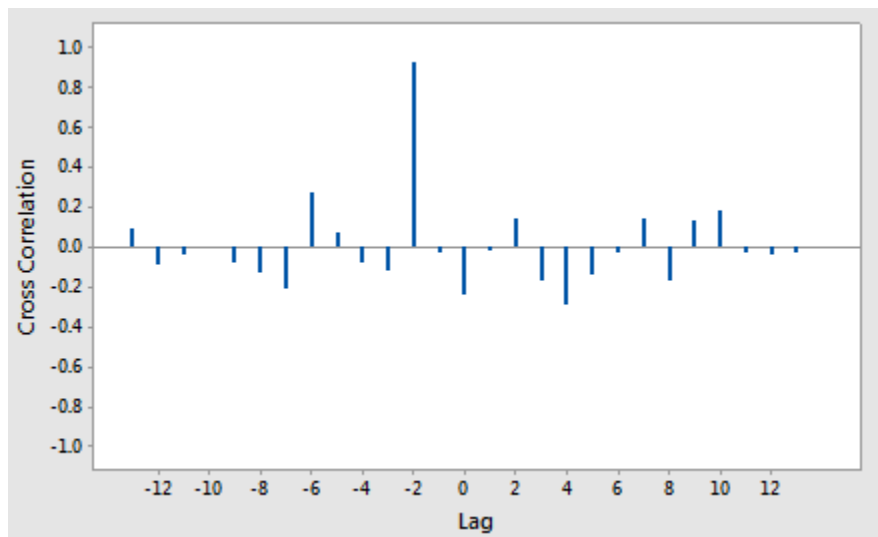


Figura 15. Ejemplo de la aplicación del parámetro de significancia. En este gráfico, la correlación en lag -2 es aproximadamente de 0,92. Dado que $0,92 > 0,5547 = \frac{2}{\sqrt{15 - |2|}}$ la correlación es significativa (Minitab Support, 2020).

6.4.4.5 Conectoma

Para cada neurona restante tras el filtro, se identificaron los “momentos” en los que la actividad en Hz o espigas por segmento cambia respecto a la actividad basal y, o actividad del segmento anterior o posterior. Sporns, (2011) señala tres aspectos fundamentales para la definición de “Conectoma”: “Primero, el conectoma tiene que ver principalmente con la estructura, con el extenso pero finito conjunto de vínculos físicos entre los elementos neuronales... En segundo lugar, es importante subrayar que un conectoma es una descripción de la conectividad. El término “descripción” implica la compresión de datos crudos con el objetivo de extraer la máxima información... En tercer lugar, la idea principal detrás del concepto de conectoma es que es la descripción de una red”.

6.4.4.5.1 Grafo

Flovik (2020) resume en un artículo introductorio: “La idea básica de los grafos fue introducida por primera vez en el siglo XVIII por el matemático suizo Leonhard Euler, uno de los matemáticos más eminentes del siglo XVIII (y de todos los tiempos, en realidad). Su trabajo sobre el famoso ‘Problema de los Siete Puentes de Königsberg’, es comúnmente citado como el origen de la teoría de grafos.

La ciudad de Königsberg en Prusia (ahora Kaliningrado, Rusia) estaba ubicada a ambos lados del río Pregel e incluía dos islas grandes, Kneiphof y Lomse, que estaban conectadas entre sí, o con las dos partes continentales de la ciudad, por siete puentes (como se ilustra en la figura de abajo a la izquierda). El problema era idear un paseo por la ciudad que cruzara cada uno de esos puentes una sola vez.

Euler, reconociendo que las restricciones relevantes eran los cuatro cuerpos de tierra y los siete puentes, dibujó la primera representación visual conocida de un grafo moderno. Un grafo moderno, está representado por un conjunto de puntos, conocidos como vértices o nodos, conectados por un conjunto de líneas conocidas como aristas. La teoría de grafos es, en última instancia, el estudio de las relaciones. Dado un conjunto de nodos y conexiones, que pueden abstraer cualquier cosa, desde diseños de ciudades hasta datos de computadora, la teoría de grafos proporciona una herramienta útil para cuantificar y simplificar las muchas partes móviles de los sistemas dinámicos. El estudio de gráficos a través de un marco proporciona respuestas a muchos problemas de disposición, redes, optimización, coincidencia y operación.”



Figura 16. Abstracción de un problema de la vida real a su representación como estructura matemática o grafo.

6.4.4.5.2 PageRank

En este contexto, se aplicó una modificación del algoritmo original de Google “PageRank”. La web Wikipedia (2022) menciona de PageRank: “Google interpreta un enlace de una página A a una página B como un voto, de la página A, para la página B. Pero Google mira más allá del volumen de votos, o enlaces que una página recibe; también analiza la página que emite el voto. Los votos emitidos por las páginas consideradas ‘importantes’, es decir con un PageRank elevado, valen más, y ayudan a hacer a otras páginas ‘importantes’. Por lo tanto, el PageRank de una página refleja la importancia de la misma en Internet.”

Reinterpretando lo anterior, al aplicar el algoritmo (Anexo 5) en el contexto de este estudio, obtuvimos una medida de relevancia de cada tipo de neurona en el circuito estudiado.

6.4.4.6 Análisis exploratorio de datos

Finalmente se extrajo un conjunto de datos de los archivos correspondientes a las neuronas filtradas y se realizó un análisis exploratorio de datos o EDA (por sus siglas en Inglés). El análisis exploratorio de datos se refiere al proceso crítico de realizar investigaciones sobre los datos para descubrir patrones, detectar anomalías, probar hipótesis y verificar suposiciones con la ayuda de estadísticas resumidas y representaciones gráficas. Este suele ser un paso importante para la construcción de modelos de Machine y Deep Learning (Patil, 2018; MathWorks). El algoritmo (Anexo 6) que se usó para para la extracción de datos primero segmenta las señales procesadas (vector que contiene los rastros de actividad normalizada) en doce ventanas temporales. (Las ventanas corresponden a la segmentación en tres partes: Pre-rascado a postrascado; Y, nueve partes: Basal 1 hasta Basal 3); Después, en lugar de tomar ventanas discretas, tomaremos ventanas superpuestas con un 50% de superposición, lo cual permitirá que cada ventana contenga información de la ventana contigua. En las ventanas resultantes se calcularon, promedio, mediana, varianza, desviación estándar, desviación media absoluta, kurtosis y valores por encima de la media. (Fig. 17). Este enfoque se ha utilizado en estudios recientes en línea y fuera de línea dirigidos a la clasificación de datos de electromiografía de superficie para el control natural de las prótesis de mano robóticas (Atzori & Henning, 2019; Nabriya, 2021).

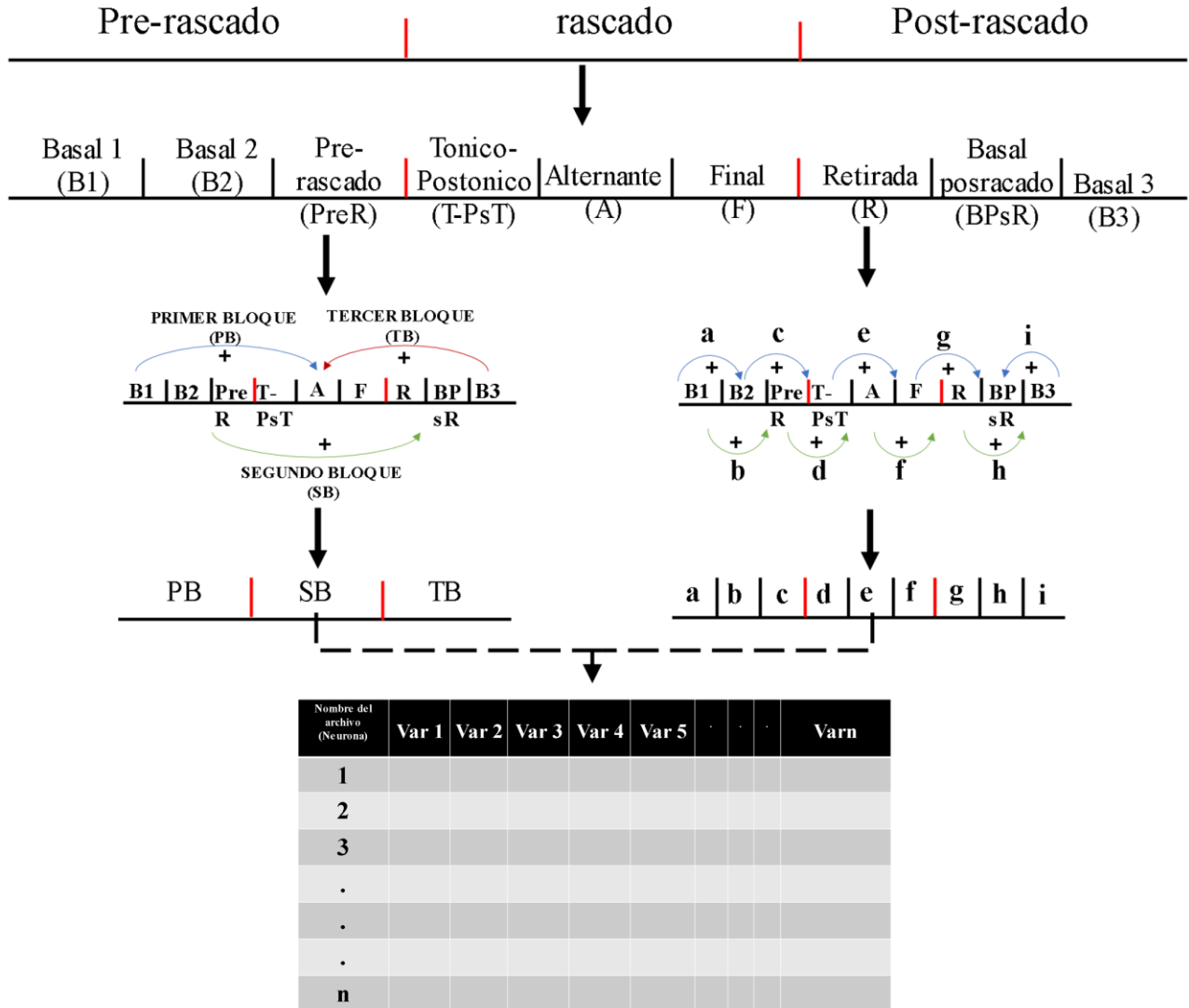


Figura 17. Esquema del algoritmo “features”. Toma los rastros de actividad normalizados (Cuantificados en potenciales de acción y frecuencia por segundo) y devuelve una matriz con la estadística descriptiva para cada nueva ventana. El Primer Bloque (PB) es la suma de B1 hasta la primera mitad de A; El Segundo Bloque (SB) es la suma de PreR hasta R; El Tercer Bloque (TB) es la suma de la segunda mitad de A hasta B3.

7 Resultados

Se realizaron 2 experimentos donde 337 correlaciones resultaron significativas, obteniendo así una n de 332 neuronas de las cuales 163 fueron registradas en la región del Óbex y 169 en la Médula espinal. (Fig. 17) Se corroboró la existencia de neuronas con patrón de descarga ON-OFF y OFF-ON ya descritas con anterioridad (Cuellar et al., 2014; Cuellar et al., 2018; Tapia et al., 2013). Además, en ambas ubicaciones se logró identificar a grupos neuronales que difieren de la actividad

ON-OFF/OFF-ON (Fig. 18).

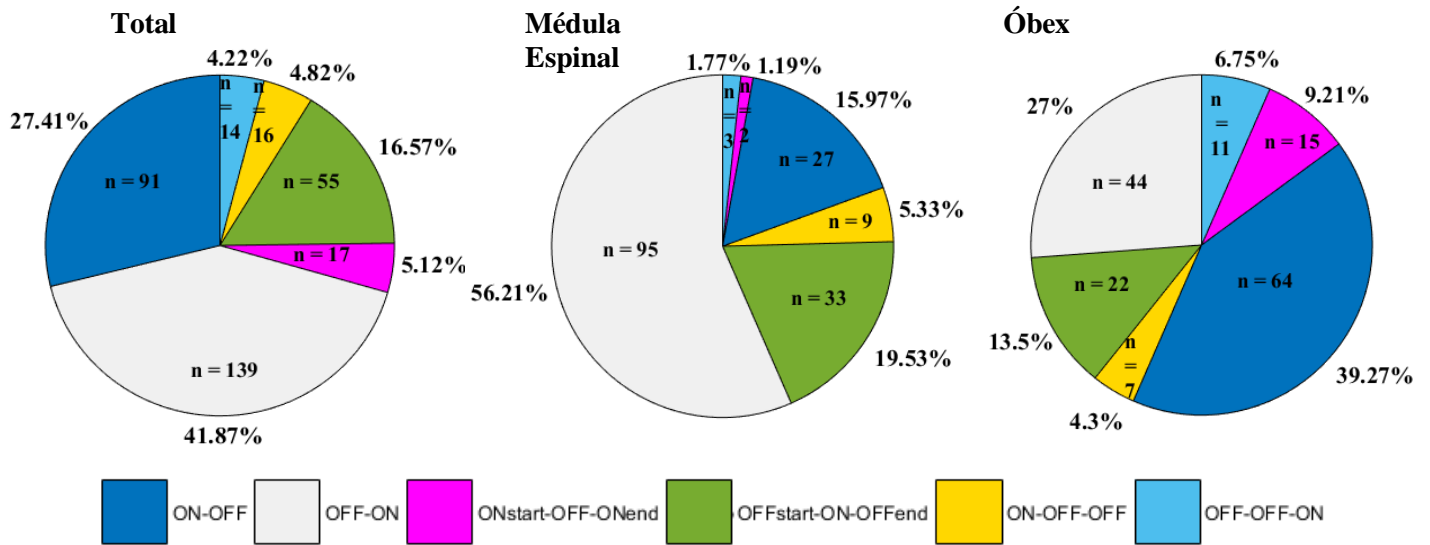
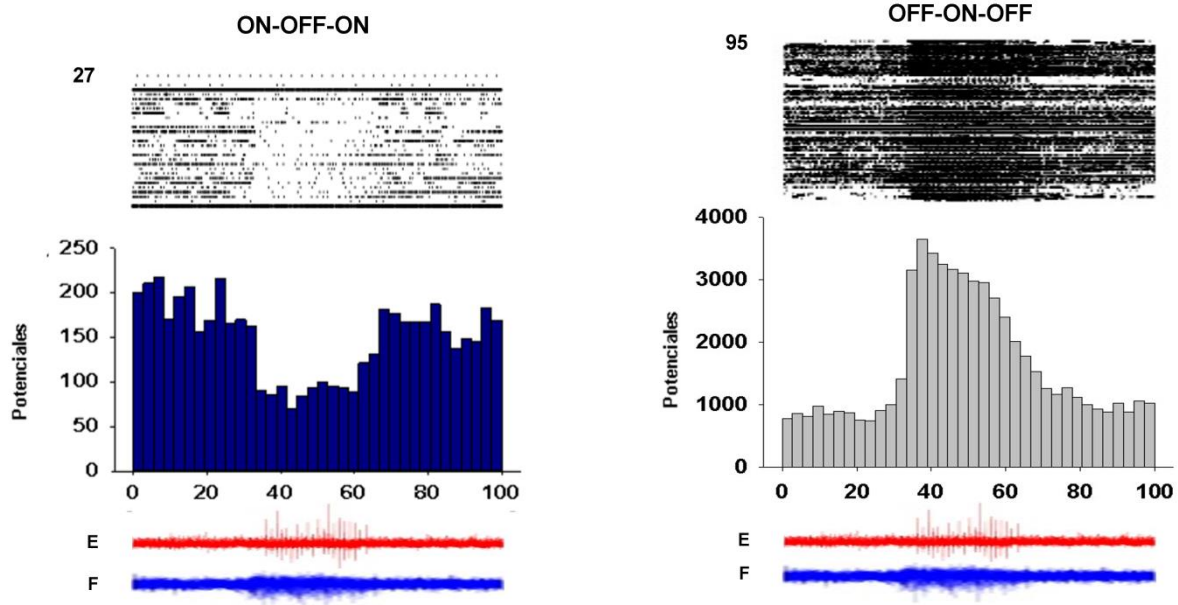


Figura 17. Número de neuronas que fueron identificadas y su clasificación.



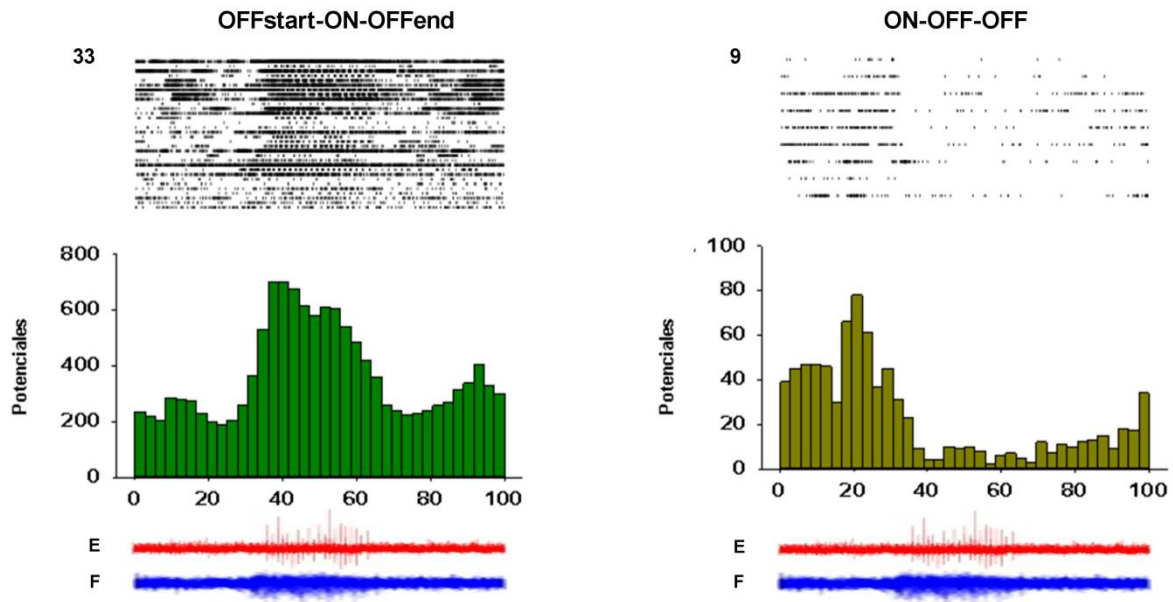
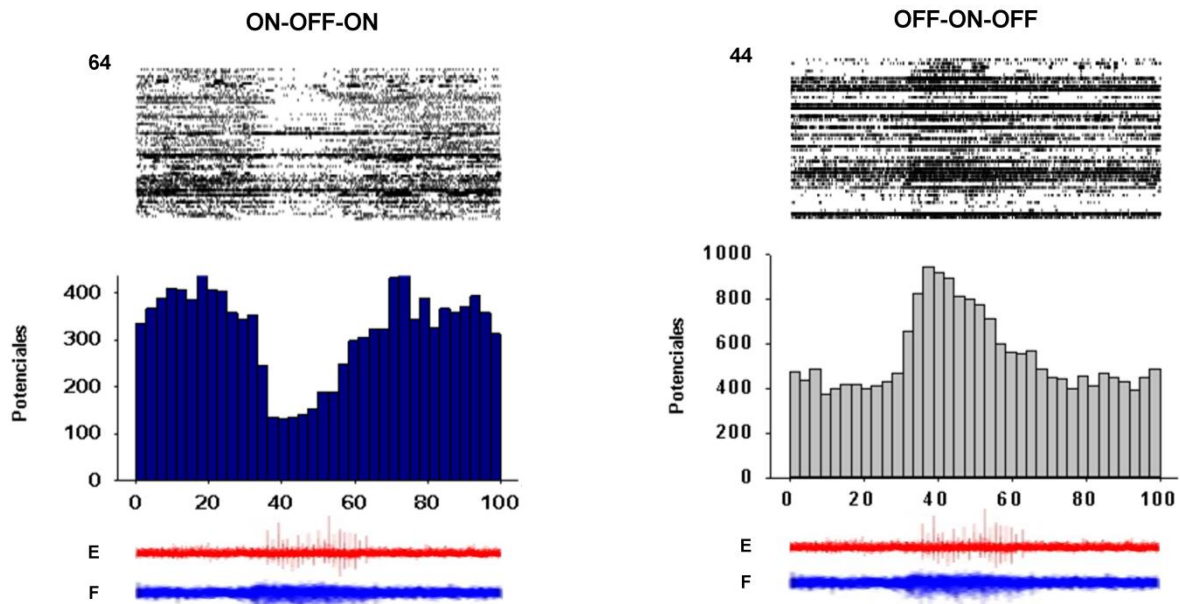


Figura 18. Histogramas y rastros de actividad neuronal que corresponden a los registros obtenidos en la región lumbar de la Médula Espinal. Los datos correspondientes a la clasificación ONstart-OFF-ONend y OFF-OFF-ON fueron limitados por lo cual no fueron graficados en esta figura.



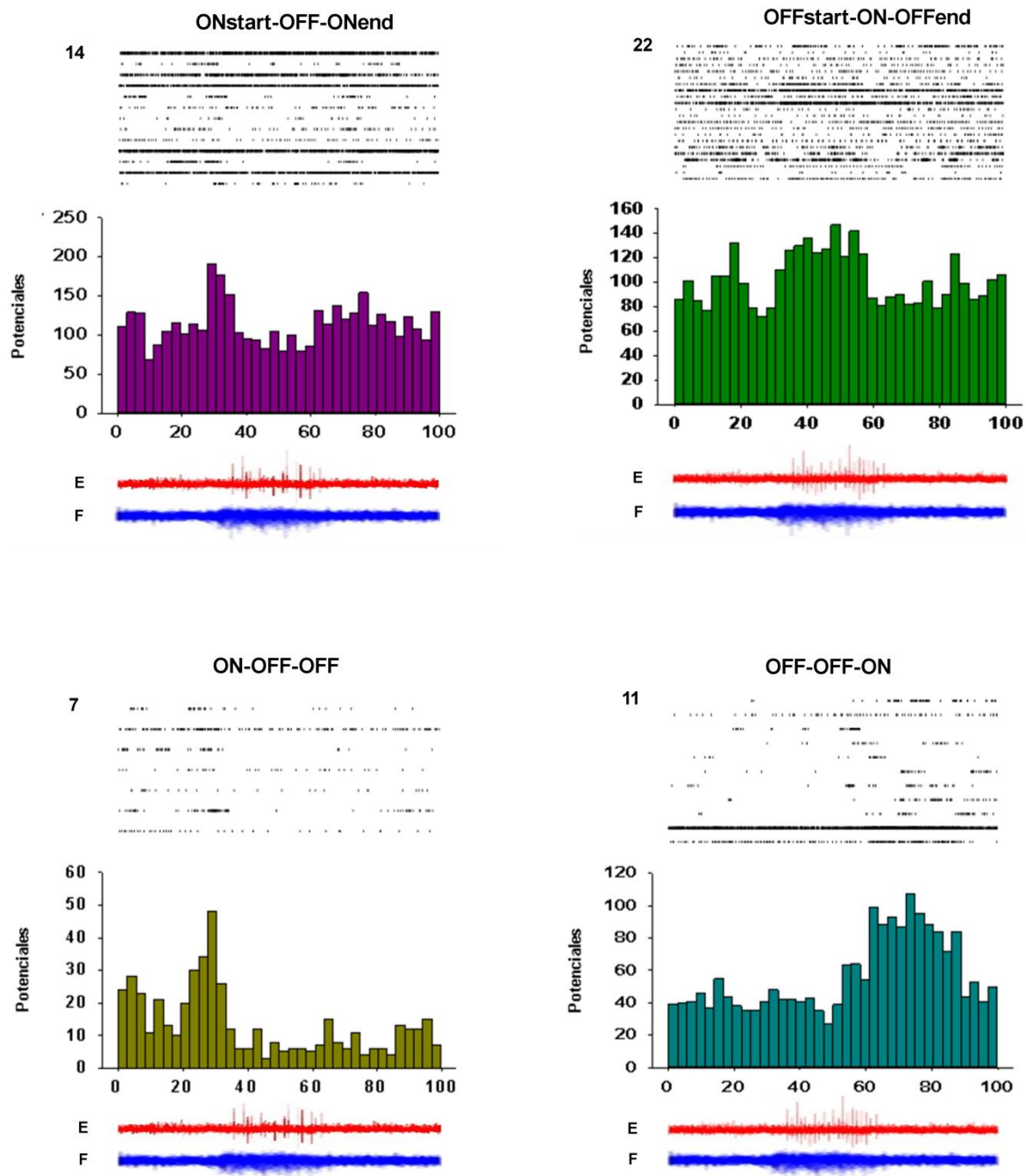


Figura 19. Histogramas y rastros de actividad neuronal que corresponden a los registros obtenidos en la región del Obex.

Profundidad del registro (μm)	Médula Espinal	Óbex
ON-OFF-ON	1938.87	1203.18
Rango (min-máx)	1114-2680	740-3155
OFF-ON-OFF	1916.5	2500.5
Rango (min-máx)	1581-2188	1660-3155
Onstart-OFF-Onend	NA	2253.5
Rango (min-máx)	NA	1352-3155
OFFstart-ON-OFFend	1112.6	1153
Rango (min-máx)	1-1581	268-1223
ON-OFF-OFF	1267	1612
Rango (min-máx)	0-2124	69-3155

Profundidad del registro (μm)	Médula Espinal	Óbex
ON-OFF-ON	2753.105263	903.9622642
Rango (min-máx)	2044-3564	505-1657
OFF-ON-OFF	2910.022472	1128.486486
Rango (min-máx)	2396-3564	711-2096
Onstart-OFF-Onend	2913	2814.307692
Rango (min-máx)	2874-2952	505-1288
OFFstart-ON-OFFend	2852.75	942.2941176
Rango (min-máx)	2396-3413	239-1407
ON-OFF-OFF	2741.666667	927
Rango (min-máx)	2560-2874	258-1806
OFF-OFF-ON	2345.666667	984.4
Rango (min-máx)	2214-2560	414-1700

Figura 20. Promedios y rangos de profundidad donde se obtuvieron los registros del experimento 1 y 2 respectivamente.

Tipo	Latencia promedio normalizada (Médula E.)		Latencia promedio normalizada (Óbex)					
ON-OFF-ON	0.9157	1.9341			0.9463	1.9109		
OFF-ON-OFF	0.9663	1.9597			0.9661	1.9423		
Onstart-OFF-Onend	0.7575	0.9922	2.0003	2.0690	0.8523	1.0372	1.7994	2.0818
OFFstart-ON-OFFend	0.7695	1.0474	1.8016	2.1256	0.7031	0.9418	1.7768	1.9909
ON-OFF-OFF	0.9192				0.9058			
OFF-OFF-ON	1.8457				1.7557			

	ON-OFF-ON	OFF-ON-OFF	Onstart-OFF-Onend	OFFstart-ON-OFFend	ON-OFF-OFF	OFF-OFF-ON
0 Óbex	Basal	Basal	Basal	-	Basal	Basal
Médula Espinal	Basal	Basal	+	Basal	Basal	Basal
Óbex	Basal	Basal	+	-	Basal	Basal
Médula Espinal	Basal	Basal	+	-	Basal	Basal
Óbex	Basal	Basal	+	Basal	-	Basal
Médula Espinal	-	Basal	+	-	Basal	Basal
Óbex	Basal	Basal	+	Basal	-	Basal
Médula Espinal	-	Basal	+	-	-	Basal
Óbex	-	+	+	Basal	-	Basal
Médula Espinal	-	Basal	+	-	-	Basal
Óbex	-	+	+	Basal	-	Basal
1 Médula Espinal	-	+	Basal	-	-	Basal
Óbex	-	+	Basal	Basal	-	Basal
Médula Espinal	-	+	Basal	Basal	-	Basal
Óbex	-	+	Basal	-	-	+
Médula Espinal	-	+	Basal	Basal	-	Basal
Óbex	-	+	+	-	-	+
Médula Espinal	-	+	Basal	-	-	Basal
Óbex	Basal	+	+	-	-	+
Médula Espinal	Basal	+	Basal	-	-	+
Óbex	Basal	Basal	+	-	-	+
Médula Espinal	Basal	Basal	Basal	-	-	+
Óbex	Basal	Basal	+	Basal	-	+
Médula Espinal	Basal	Basal	+	-	-	+
Óbex	Basal	Basal	Basal	Basal	-	+
Médula Espinal	Basal	Basal	Basal	-	-	+
Óbex	Basal	Basal	Basal	Basal	-	+
Médula Espinal	Basal	Basal	Basal	Basal	-	+

c

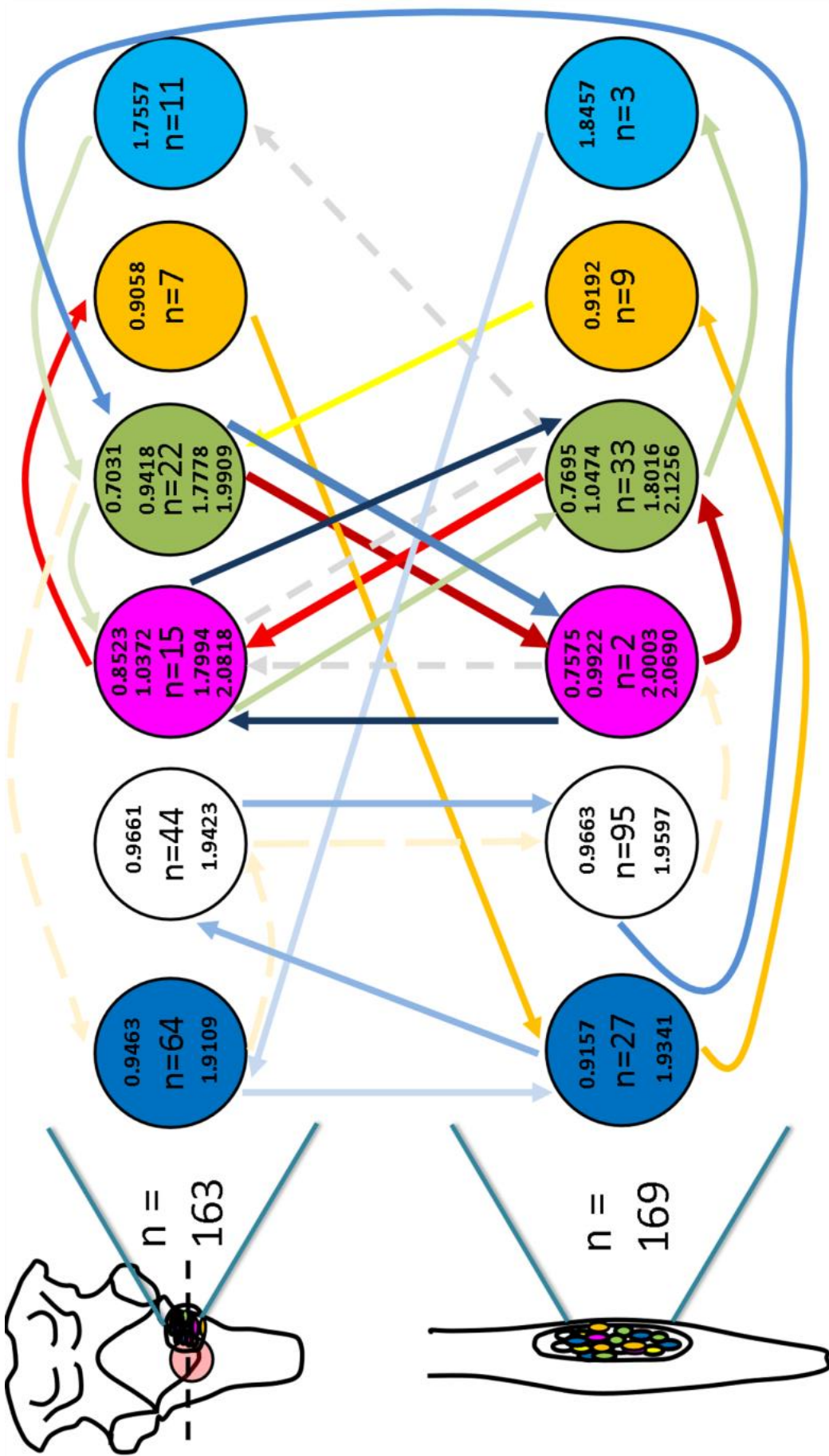


Figura 21. (A) Latencias promedio de la actividad eléctrica en la médula espinal y el óbex. **(B)** En esta tabla se ordenó la secuencia temporal de los datos de la tabla anterior, aquí se puede observar si el cambio en la actividad de las distintas neuronas tuvo un aumento (+) o una disminución (-). **(C)** Grafo que representa la información de las tablas en A Y B. El tiempo “0” corresponde al inicio del registro; “1” al inicio del rascado ficticio (actividad tónica del m. flexor) y “2” al final del mismo.

Con el fin de obtener los “pesos” (Fig. 22) de cada neurona dentro del circuito propuesto construimos la siguiente matriz:

A

[0,	0,	0,	0,	0,	1,	0,	0,	0,	1/2,	1,	0]
[1/4,	0,	0,	0,	0,	0,	1/3,	2/3,	0,	0,	0,	0]
[1/4,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	1]
[0,	0,	1/2,	0,	0,	0,	0,	0,	1/2,	0,	0,	0]
[0,	1/4,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0]
[0,	0,	0,	0,	0,	0,	1/3,	0,	0,	0,	0,	0]
[0,	3/4,	0,	0,	0,	0,	0,	1/3,	0,	0,	0,	0]
[2/4,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	1/2,	0,	0]
[0,	0,	1/2,	0,	1,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0]
[0,	0,	0,	1,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0]
[0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	0,	1/2,	0,	0,	0]
[0,	0,	0,	0,	0,	0,	1/3,	0,	0,	0,	0,	0]

En ella cada columna representa un tipo de neurona y, su probabilidad de tener una sinapsis con otro tras determinados ciclos de actividad del circuito.

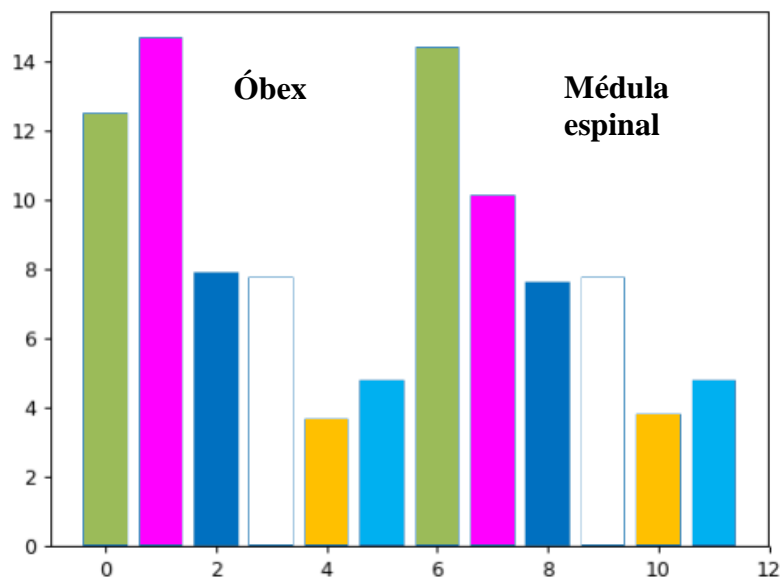


Figura 22. Gráfica donde se observan los resultados del PageRank para cada tipo de neurona. Los resultados en orden son: 12.51364132; 14.69625318; 7.93015642; 7.78464896; 3.6740633; 4.80174609; 14.40523827; 10.14914514; 7.63914151; 7.78464896; 3.81957075; 4.80174609.

Como resultado del análisis exploratorio se obtuvieron 4 matrices (Una de la región del óbex y una correspondiente a la médula espinal para cada experimento) de n *72, donde n es el número de neuronas identificadas. Las 72 columnas son los distintos recortes y variables que se calcularon. (Figura 17). Por ejemplo, promedio de la frecuencia de disparo (Hz) y desviación estándar. (Fig.23).

A)

Óbex	OFFs-ON-OFFe			Ons-OFF-One			ON-OFF-ON		
n	22			15			64		
Bloque	PB	SB	TB	PB	SB	TB	PB	SB	TB
Frecuencia promedio (Hz)	9.58	10.65	9.00	23.64	27.40	23.49	8.96	8.83	9.72
Desviación estándar	11.23	14.32	9.53	26.94	31.27	28.13	10.55	10.66	10.66

OFF-ON-OFF			ON-OFF-OFF			OFF-OFF-ON		
44			7			11		
PB	SB	TB	PB	SB	TB	PB	SB	TB
25.63	30.78	22.51	3.38	2.59	1.53	5.96	10.11	11.35
37.84	45.59	34.11	1.48	1.55	1.22	14.26	19.01	18.71

Óbex	OFF-ON-OFF								
n	44								
Segmento	a	b	c	d	e	f	g	h	i
Frecuencia promedio (Hz)	19.80	18.89	20.76	32.55	34.97	62.66	27.25	2.97	19.57
Desviación estándar	33.14	30.33	34.62	44.20	47.19	104.66	43.93	4.38	28.37

Óbex	OFFs-ON-OFFe								
n	22								
Segmento	a	b	c	d	e	f	g	h	i
Frecuencia promedio (Hz)	8.55	9.06	8.75	10.45	11.89	16.41	9.40	5.46	8.95
Desviación estándar	7.55	8.37	8.75	15.68	16.86	30.82	12.12	4.39	7.75

Óbex	ONs-OFF-ONE								
n	15								
Segmento	a	b	c	d	e	f	g	h	i
Frecuencia promedio (Hz)	21.71	21.14	25.75	25.83	22.41	64.86	31.93	3.85	22.81
Desviación estándar	25.26	24.46	26.91	30.68	28.69	88.53	37.94	3.09	31.57

Médula espinal	OFFs-ON-OFFe			Ons-OFF-One			ON-OFF-ON		
n	33			2			27		
Bloque	PB	SB	TB	PB	SB	TB	PB	SB	TB
Frecuencia promedio (Hz)	25.86	33.90	24.97	0.73	1.14	1.08	9.49	8.60	8.82
Desviación estándar	26.02	34.50	25.27	0.09	0.08	0.01	15.69	17.87	17.01

OFF-ON-OFF			ON-OFF-OFF			OFF-OFF-ON		
95			9			3		
PB	SB	TB	PB	SB	TB	PB	SB	TB
33.59	48.16	31.43	8.06	4.01	2.58	20.42	24.86	25.56
30.99	43.81	30.81	1.48	1.81	1.75	33.92	40.68	40.58

Médula espinal	OFF-ON-OFF								
n	95								
Segmento	a	b	c	d	e	f	g	h	i
Frecuencia promedio (Hz)	17.2134	16.9717	19.3204	51.2489	62.0218	87.4606	36.529	4.1557	20.8872
Desviación estándar	20.2637	20.2327	22.0541	44.9461	52.8254	95.3144	38.5854	6.3032	23.2735

Médula espinal	OFFs-ON-OFFe								
n	33								
Segmento	a	b	c	d	e	f	g	h	i
Frecuencia promedio (Hz)	16.5441	17.0558	16.8967	35.579	43.2022	66.3073	28.3883	4.9231	22.308
Desviación estándar	18.6739	19.9368	18.1551	35.774	43.9784	80.0793	31.7966	6.9704	24.9579

Médula espinal	ONs-OFF-ONe								
n	2								
Segmento	a	b	c	d	e	f	g	h	i
Frecuencia promedio (Hz)	0.525	0.45	1.55	0.775	0.25	1.1	1.425	0.65	1.35
Desviación estándar	0.3889	0.0707	0.0707	0.0354	0.3536	0.1414	0.2475	0.2121	0.2121

Figura 23. Muestra de EDA. Frecuencias promedio y desviación estándar de disparo en óbex y médula espinal respectivamente.

8 Discusión

Dado que el estudio estaba pensado en esclarecer la correlación y la función de neuronas ya reportadas (ON-OFF-ON y OFF-ON-OFF), la identificación de otras poblaciones con actividad distinta, aparentemente recíproca y “simétrica” entre las ubicaciones de registro fue una sorpresa. El primer grupo de estas nuevas observaciones, presenta un comportamiento de excitabilidad que se mantiene hasta el segmento que corresponde al inicio del rascado ficticio, después se mantiene silente aun cuando el rascado ficticio ha terminado. Por lo anterior a este grupo lo clasificamos como ON-OFF-OFF. En contraparte el segundo grupo presenta una actividad basal silente hasta el final del rascado ficticio, y solo exhibe actividad posterior a este, por ello a este grupo lo clasificamos como OFF-OFF-ON. El tercer grupo corresponde a neuronas que presentan un periodo corto de mayor excitabilidad en los momentos más próximos al inicio y final del rascado ficticio, a estas neuronas las clasificamos como ONstart-OFF-ONend (Fig. 18 y Fig. 19). Por último, el cuarto grupo exhibe un comportamiento contrario al tercer grupo, es decir, una disminución de la actividad en un periodo corto de tiempo alrededor del inicio y final del rascado ficticio. A este grupo le atribuimos la clasificación OFFstart-ON-OFFend. (Fig. 18 y Fig. 19).

La secuencia propuesta debe leerse bajo las siguientes consideraciones: Cada línea en el grafo (Fig. 21 C) representa una posible sinapsis sin pesos asignados; Dados los alcances del análisis, la dirección está determinada simplemente en función de la ocurrencia temporal de la inhibición o excitación(a lo que nos referimos como “momentos”) entre los distintos grupos identificados, lo cual no es concluyente; Se usará, TiN para Tiempo de inhibición Normalizado o TeN para Tiempo de excitación Normalizado. Estos tiempos se refieren a la diferencia entre momentos por ejemplo para el grupo OFFstart-ON-OFFend (verdes) Momento 1 = 0.70 y Momento 2 = 0.94 Lo que ocurre entre 1 y 2 en este caso es una inhibición; Así, $TiN = 0.24$.

Las neuronas OFFstart-ON-OFFend (Verdes) del óbex son inhibidas ($TiN = 0.24$) lo que provoca la excitación ($TeN = 0.24$) del grupo ONstart-OFF-ONend (Rosas) de la médula espinal. Se genera la inhibición ($TiN = 0.28$) del grupo OFFstart-ON-OFFend (Verdes) de la misma región.

En el óbex las neuronas del grupo ONstart-OFF-ONend (Rosas) aumentan ($TeN = 0.28$) su actividad. El grupo ON-OFF-OFF (amarillas) en el mismo óbex es inhibido y no vuelve a un estado basal.

El grupo ON-OFF-ON (Azul oscuro) en la médula espinal es inhibido. ($TiN = 1.01$). Las neuronas ON-OFF-OFF (Amarillas) de la misma zona son inhibidas y no regresan a un estado basal.

En el óbex las neuronas OFFstart-ON-OFFend(verdes) vuelven a su estado basal. Mientras que el grupo ON-OFF-ON (Azul oscuro) del mismo óbex es inhibido ($TiN = 0.9646$) Los grupos OFF-ON-OFF (blancas) de ambas ubicaciones aumentan su actividad una seguida de otra de óbex a médula espinal. ($TeN = 0.9762$ y 0.9934).

1. Los grupos ONstart-OFF-ONend (rosas) de ambas ubicaciones vuelven a su estado basal, una seguida de otra de médula espinal a óbex. Mientras que en la médula espinal las neuronas OFFstart-ON-OFFend(verdes) regresan a su estado basal.

El grupo OFF-OFF-ON (Azul claro) del óbex comienza a disparar y mantiene esta actividad hasta el final del registro. En la misma zona las neuronas OFFstart-ON-OFFend (Verdes) se ven inhibidas por segunda ocasión ($TiN = 0.21$). A la vez que el grupo ONstart-OFF-ONend (Rosas) tiene también una segunda excitación ($TeN = 0.28$).

En la médula espinal las neuronas OFFstart-ON-OFFend(verdes) tienen también esa segunda inhibición ($TiN = 0.32$). Mientras que las OFF-OFF-ON (Azul claro) de la misma zona aumentan su actividad hasta el final del registro.

Los grupos ON-OFF-ON (Azules) de ambas ubicaciones vuelven a su estado basal, en orden de óbex a médula espinal. Inmediato a esto, ocurre lo mismo con los grupos OFF-ON-OFF (Blancas).

2. Por último, regresan a su estado basal: las neuronas OFFstart-ON-OFFend(verdes) del óbex; En la médula espinal las ONstart-OFF-ONend (rosas); en el óbex el grupo ONstart-OFF-ONend (rosas); OFFstart-ON-OFFend(verdes) de la médula espinal, en ese orden.

Recientemente Gutiérrez (2020) reporto la Caracterización de la distribución rostrocaudal y del retraso de fase de sincronía de interneuronas ON-OFF y OFF-ON (En este estudio ON-OFF-ON y OFF-ON-OFF para diferenciar de los nuevos grupos) espinales durante el rascado ficticio en el gato espinalizado. Además, caracterizo la actividad de nuevas clases de interneuronas. Particularmente identifiqué como importante para el inicio del rascado ficticio a una población con actividad similar a las OFFstart-ON-OFFend(verdes) en este estudio las que podrían estar implicadas en el generador central de patrones para desarrollar el rascado ficticio. En línea con esta secuencia, los resultados del PageRank arrojan que las poblaciones ONstart-OFF-ONend (rosas) y OFFstart-ON-OFFend(verdes) del óbex y médula espinal respectivamente son las de mayor relevancia para el circuito. En ese sentido nuestros resultados serían una confirmación a sus hallazgos además de ampliar la visión hacia el papel de la formación reticular, específicamente de las interneuronas en la región del óbex.

En el conectoma propuesto (Figura 21 C) se observa que los nodos representando los grupos ON-OFF-OFF y OFF-OFF-ON de ambas ubicaciones tienen cada uno una sola entrada y una sola salida, y de hecho los nodos correspondientes resultan redundantes. Gutiérrez (2020) también advierte en su estudio que las observaciones de un grupo con actividad similar a la aquí expuesta podrían ser producto del funcionamiento de Wave Clus. Dado que este crea clusters dependiendo de la morfología del potencial de acción, esta morfología podría cambiar a lo largo del registro, otorgando una putativa nueva clasificación que en realidad es una separación de la actividad de las neuronas ON-OFF-ON. Una explicación opuesta es que estas neuronas juegan un rol como sinapsis convergente, lo cual explicaría las pocas observaciones.

8.1 Comportamiento homólogo y evolución de los circuitos

Los núcleos en el tronco encefálico, particularmente los de la formación reticular no están definidos y tienen más bien una distribución difusa, lo cual, para las técnicas electrofisiológicas han significado en la dificultad para dilucidar los mecanismos supraespinales para la activación/control de generadores centrales de patrones en la médula espinal. Las últimas décadas, el avance de campos particulares como la Biología molecular y la microscopía han permitido el estudio del sistema nervioso a nivel celular y molecular. Pero, pese a los esfuerzos, aún no se logra interpretar la relación entre los hallazgos de ambas líneas y los distintos comportamientos animales. Grillner et al., (1998) escriben: “incluso con una descripción molecular completa de cada de una de las células presentes en todo el sistema nervioso central, uno aún, no sabría nada sobre la función del sistema nerviosos central, porque la esencia del mismo es su intrincada y específica organización neuronal”. No obstante, el desarrollo y la integración, tal vez hace algunas décadas inesperado que han tenido otros campos como la informática, hace ver una situación más optimista al respecto.

Como ya se mencionó en líneas anteriores el uso de modelos animales *in vivo*, en particular del modelo usado en este estudio, es cada vez más restringido, por ello con vista a futuro, parece pertinente discutir nuestros resultados en el contexto de otros modelos que están encaminados a deslumbrar los mecanismos por los cuales el Sistema Nervioso procesa los diferentes estímulos.

Strausfeld & Hirth (2016) escriben: “Con el advenimiento de la genética y la genómica del desarrollo molecular, ha quedado claro que la homología es un concepto que se aplica no solo a las morfologías, sino también a los genes, los procesos de desarrollo y los comportamientos. Los estudios comparativos en filos que van desde anélidos y artrópodos hasta mamíferos están proporcionando evidencia de que los mecanismos genéticos del desarrollo correspondientes actúan no solo en la especificación del eje dorsoventral y anteroposterior, sino también en la segmentación, la neurogénesis, la axogénesis y la formación de células oculares/fotorreceptoras que parecen ser conservados en todo el reino animal”.

Dada la increíble variedad de especies, existe, también una gran variedad de “configuraciones” de sistemas nerviosos. Lo cual complica el determinar que circuitos, mecanismos y/o comportamientos son homólogos. Más aún, cuando existen pruebas que apuntan en la dirección contraria y complican el consenso científico. Por ejemplo, mientras que ya se ha demostrado el papel análogo del lóbulo antenal de los insectos con respecto al bulbo olfatorio de mamíferos (Kay

& Stopfer, 2006)., El descubrimiento reciente de que la organización única del SNC del pulpo es un reflejo de la divergencia evolutiva que también existe (Strausfeld & Hirth, 2016). Estudios llevados a cabo tanto en invertebrados como vertebrados *in vitro* o *in silico* han probado la conservación de mecanismos celulares y moleculares que llevan a la locomoción (Marder & Calabrese, 1996; Bargmann, 2012; Gutierrez et al., 2013). Un ejemplo claro de la conservación observada, es la existencia de ciertos grupos neuronales capaces de desarrollar patrones rítmicos de actividad en ausencia de aferencias centrales o periféricas (Wilson, 1961; Weeks, 1981; Wallén & Williams, 1984; Getting, 1989; Weimann & Marder, 1994).

En el olfato un sistema sensorial que se considera tradicionalmente totalmente distinto a aquel que genera la locomoción o el rascado ficticio se ha demostrado que insectos y vertebrados desarrollaron por separado mecanismos notablemente similares para procesar la información olfativa (Kay & Stopfer, 2006). Tanto en el sistema olfativo de los insectos como en el de los vertebrados, solo dos sinapsis separan la periferia sensorial de las áreas cerebrales necesarias para la formación de la memoria y la organización del comportamiento (Masse et al., 2009). De manera particular, la vía olfativa temprana, es decir a nivel de la transducción exhibe comportamiento dinámico similar a través de filos de insectos a mamíferos. Lo cual incluye las oscilaciones de las redes, así como de los mecanismos de donde emergen (Hildebrand & Shepherd, 1997; Kay, 2015; Popov & Szyszka, 2020). Más aún Pyzza et al., (2021) hipotetizan que las escalas de tiempo de excitación rápida e inhibición rápida y lenta presentes en estas redes pueden ser el elemento esencial que subyace a este comportamiento similar observado en este sistema sensorial en específico.

Sakurai & Katz (2017) han proporcionado evidencia donde los comportamientos homólogos son producidos por neuronas con diferente conectividad sináptica en dos especies distintas de moluscos. Además, muy recientemente los mismos autores, Sakurai & Katz (2022) han demostrado que la ráfaga estable y alternante en el CPG de natación de *Dendronotus* es una propiedad emergente de la red que surge de las acciones sinápticas y las propiedades de la membrana de las cuatro neuronas. (Figura 24).

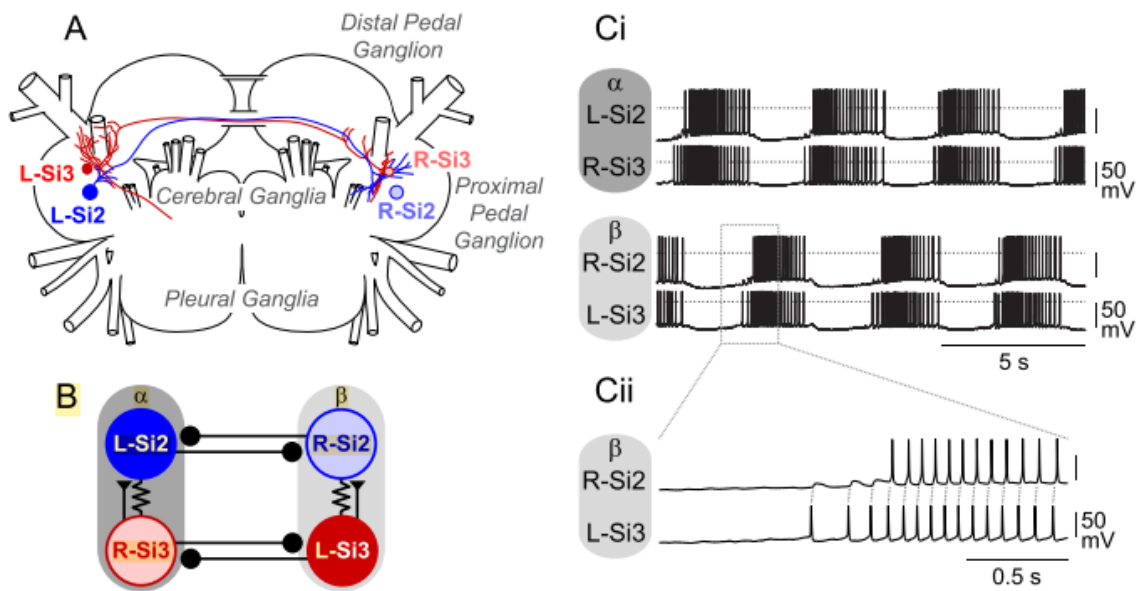


Figura 24. El generador central de patrones subyacente al comportamiento de natación de *Dendronotus iris*. A) Dibujo esquemático de las ubicaciones de los somas y proyecciones axonales. (Solo se representan las proyecciones de los axones de L-Si2 y R-Si3). B) conectividad del generador central de patrones Las líneas que terminan en triángulos indican sinapsis excitatorias, los círculos rellenos indican sinapsis inhibitorias. Los símbolos de resistencia indican conexiones eléctricas. C) Patrón motor del nado registrado intracelularmente desde las cuatro interneuronas Ci). Si2 y Si3 en el mismo módulo disparan ráfagas de potenciales de acción juntos. Cii). Los picos de L-Si3 producen potenciales excitatorios postsinápticos en R-Si2 (Sakurai & Katz, 2022).

De manera más específica descubrieron que la inhibición sináptica de Si2 por su contraparte contralateral en el módulo opuesto proporciona la hiperpolarización necesaria para que el Si3 acoplado eléctricamente rebote y dispare potenciales de acción. Los picos en Si3 luego excitan a Si2 haciendo que ambas neuronas disparen un tren sostenido de picos. Los picos de Si2 inhiben lentamente a Si3, terminando finalmente la ráfaga y liberando el módulo opuesto para la siguiente ráfaga. Esto crea una secuencia de inhibición de activación y retroalimentación en la que cada una de las cuatro neuronas, a su vez, se vuelve dominante. Si por ejemplo hacemos una analogía del ejemplo anterior con nuestras observaciones podríamos presumir que los dos módulos del ejemplo anterior son homólogos a nuestras dos ubicaciones de registro, Si3 correspondería a nuestras ON-OFF-ONend (rosas) y OFFstart-ON-OFFend(verdes); Si2 correspondería a los grupos ON-OFF-ON y OFF-ON-OFF.

8.2 Circuitos Osciladores y comandos de tiempo

Cuando neuronas excitatorias e inhibitoras se juntan en grandes grupos interconectados, se producen oscilaciones. Lo que sugiere que las oscilaciones han resultado evolutivamente hablando en una muy buena solución al problema de procesamiento neuronal (Kay, 2015).

Se han identificado dos tipos de neuronas generadoras: la osciladora constitutiva, que en ausencia de aferencias sinápticas y a determinado potencial de membrana mantiene actividad rítmica; y, por otro lado, la llamada osciladora condicional. La actividad rítmica de esta última se ve condicionada por factores exógenos, pudiendo estar en un estado pasivo o activo. A sí mismo existen comandos neuronales que provocan el cese o disminución de la actividad de los generadores centrales de patrones. Algunas sinapsis inhibitorias simplemente causan una hiperpolarización de las neuronas generadoras, en otros casos la sinapsis inhibitoria tiene como objetivo modular las propiedades intrínsecas de la membrana postsináptica (Maier, G., et al., 2008).

En este contexto y habiendo aportado información que podría ayudar a dilucidar la función de las ondas viajeras que se observan durante la ejecución del rascado ficticio en el gato, propuestas por Cuellar et al. (2009); y Tapia et al. (2013). Aún no sabemos si simplemente son un fenómeno emergente que tenemos la capacidad de observar o si realmente cumplen una función. Lo que sí sabemos es que la actividad que observamos en las neuronas que clasificamos y que presumimos generan al menos parcialmente las ondas viajeras muestran actividad muy similar a la se observa entre neuronas serotoninérgicas. Sobre esto, se ha demostrado que el efecto neuromodulador de una neurona serotoninérgica depende del intervalo entre sus picos y los de la neurona que se modula. Es decir, que la información temporal puede ser relevante para el funcionamiento de un Generador Central de Patrones. Esto implica una neuromodulación dinámica, no estática (Sakurai & Katz, 2003). Por ello hipotetizamos que las poblaciones ONstart-OFF-ONend (rosas) y OFFstart-ON-OFFend(verdes) de ambas ubicaciones tienen la capacidad de codificar primero la tarea motora a ejecutar (en este caso, el rascado ficticio) y segundo la duración de la inhibición o excitación que provocan a los grupos ON-OFF-ON (azules) y OFF-ON-OFF(Blancas). Controlando así el inicio, la duración y termino de la tarea. La generación de comandos sería dinámica en el sentido de que el animal en estado libre, puede cambiar, empezar o terminar una tarea de forma espontánea, así que los circuitos supraespinales en particular las neuronas “comandadoras” deberían estar integradas con toda una serie de “funciones” que le permitan

generar distintas respuestas. Trejo et al., (2015) con respecto a esto han comprobado que en la médula espinal lumbar del gato hay poblaciones de neuronas que participan indistintamente en el rascado ficticio o en episodios de locomoción ficticia post-rascado. Con esto en mente, ¿podríamos interpretar la Figura 21.B como una “configuración” específica que toma un set específico de neuronas para ejecutar una tarea específica? Si es así, ¿cómo hace el sistema nervioso central o las mismas neuronas para dentro de un sistema tan caótico (aún a expensas de conexiones directas esto no termina de explicar la velocidad del sistema) sincronizarse?

Popov & Szyszka (2020) han demostrado que el cerebro de la abeja melífera genera oscilaciones de alrededor de 18 Hz que comparten características de las oscilaciones alfa en el cerebro de los primates y humanos. En los monos, las oscilaciones de 10 a 20 Hz regulan la comunicación entre los módulos corticales del sistema visual (Bastos et al., 2015), lo cual ocurre de manera similar en la corteza visual humana (Michalareas et al., 2016). lo que refuerza la noción de que las oscilaciones en este caso alfa/beta cumplen funciones similares en todos los filos. Entonces, ¿Las ondas viajeras relacionadas al rascado ficticio, tendrían un papel facilitador de la sincronización entre los circuitos supraespinales y espinales?

8.3 Machine Learning

Los resultados del análisis exploratorio de datos, arrojaron que bajo el cálculo de distintas variables se pueden identificar claramente los grupos ON-OFF-ON y OFF-ON-OFF mientras que los grupos restantes se vuelven difusos entre los anteriores (Esto podría deberse al desbalance en los datos obtenidos). Motivados por esto decidimos crear un modelo de machine learning que se ajusta, primero a las clasificaciones ON-OFF-ON y OFF-ON-OFF y posteriormente otorgue predicciones sobre los “momentos” de cambio de actividad en ambas clasificaciones. El procedimiento fue el siguiente:

- Unir los datos que arrojo el análisis exploratorio de datos de todas las neuronas con la etiqueta o clasificación ON-OFF-ON y OFF-ON-OFF, esto independientemente de que pertenecieran a la región de óbex y médula espinal. (Al visualizar los datos en gráficas 2d y 3d no existe “virtualmente” una diferencia entre los datos de ambas ubicaciones).
- Se separan los datos en dos sets, uno de entrenamiento y otro para probar el modelo. Estos contienen la información (73 columnas al eliminar el nombre del archivo de referencia y agregar los “momentos” 1 y 2) de 182 y 60 neuronas respectivamente.

- Con el fin de reducir las dimensiones de las matrices (para disminuir costo computacional y facilitar la visualización) se aplicó un algoritmo de regresión lineal paso a paso, mediante la función propia de MATLAB “stepwiselm”, este arrojó lo siguiente:

```

Linear regression model:
  y ~ 1 + x40 + x57 + x29*x35 + x33*x35 + x34*x54 + x35*x43

Estimated Coefficients:

```

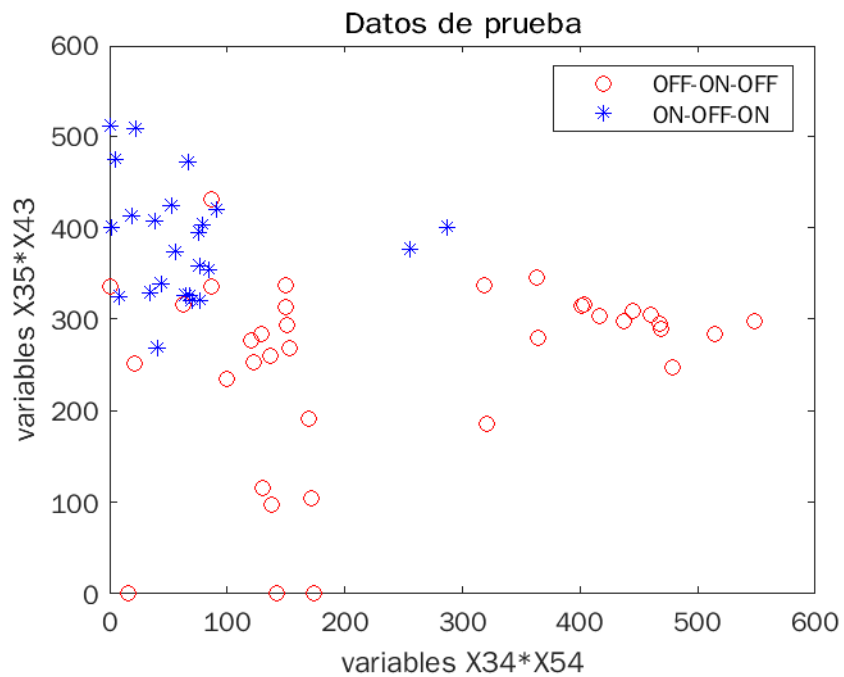
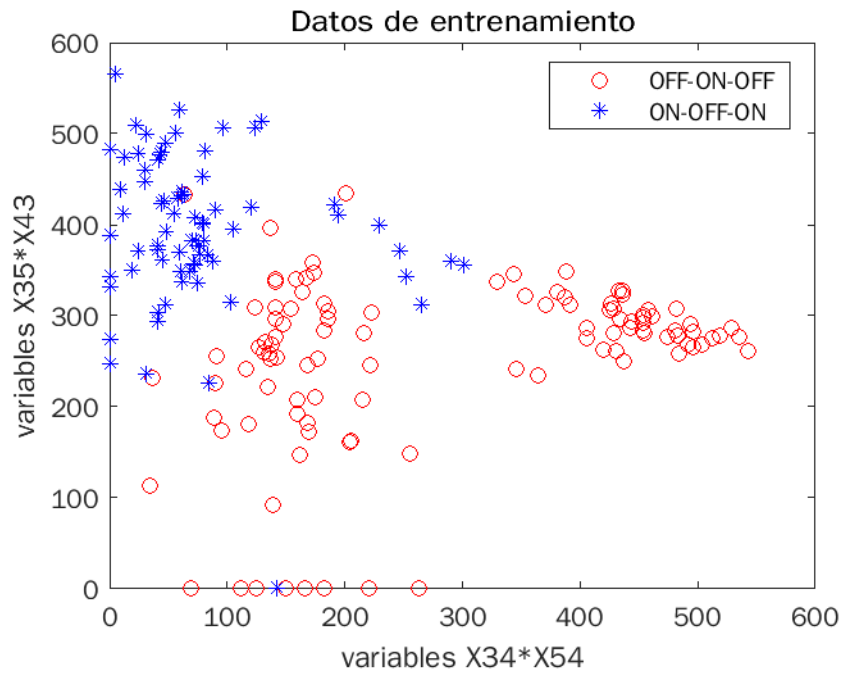
	Estimate	SE	tStat	pValue
(Intercept)	2.4397	0.34611	7.049	4.3866e-11
x29	-0.049924	0.033054	-1.5104	0.13281
x33	-0.1171	0.041822	-2.7999	0.0057079
x34	0.038503	0.015809	2.4355	0.015909
x35	-0.068895	0.028401	-2.4258	0.016328
x40	0.0098538	0.0027252	3.6158	0.00039498
x43	-0.025032	0.0088442	-2.8303	0.0052141
x54	-0.026103	0.0036845	-7.0845	3.6005e-11
x57	0.057101	0.019739	2.8928	0.0043218
x29:x35	0.0067417	0.0027655	2.4378	0.015813
x33:x35	0.0052714	0.0025196	2.0922	0.037918
x34:x54	-0.001687	0.00049408	-3.4144	0.00080041
x35:x43	0.0023519	0.0010443	2.2521	0.025605

```

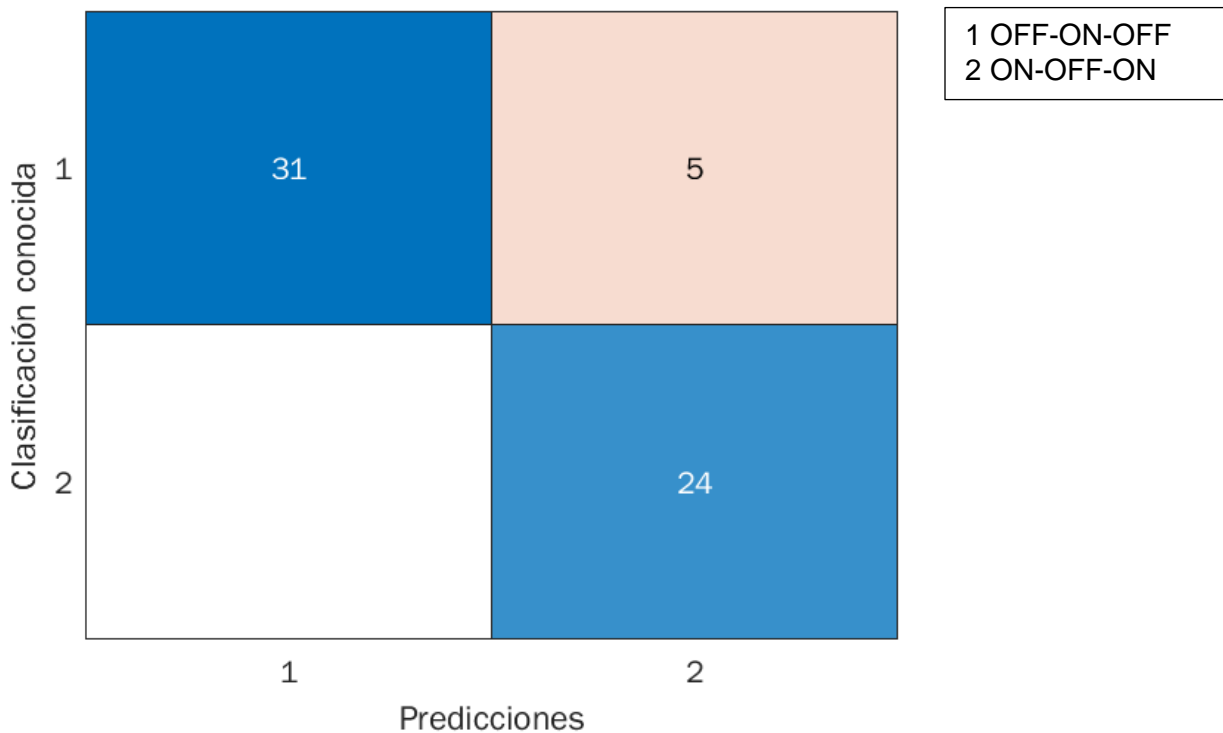
Number of observations: 182, Error degrees of freedom: 169
Root Mean Squared Error: 0.194
R-squared: 0.855, Adjusted R-Squared 0.845
fx F-statistic vs. constant model: 83.1, p-value = 2.56e-64

```

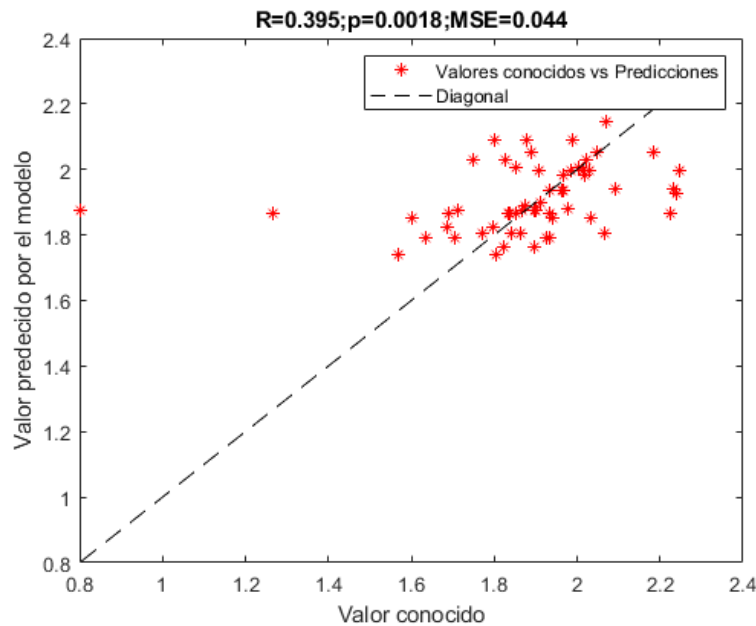
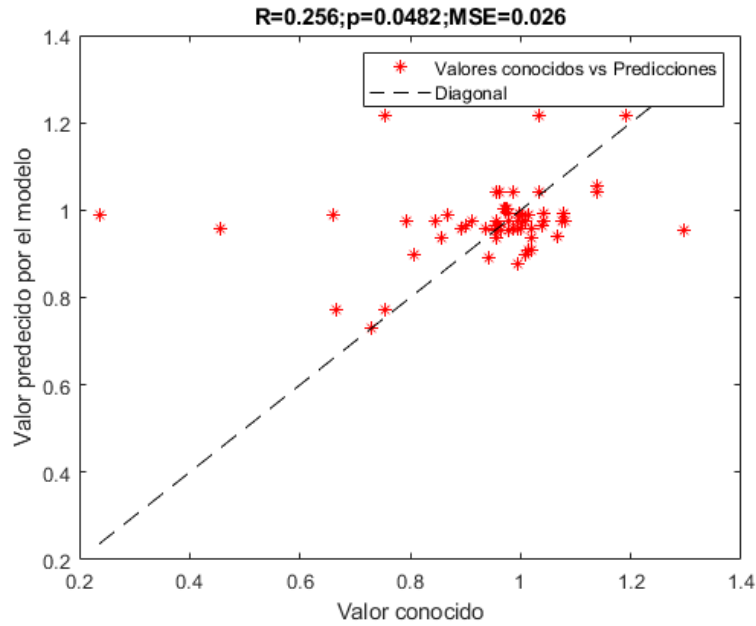
- De nuevo se graficaron las variables arrojadas en gráficas 2d y 3d y el análisis de las mismas arrojó que al multiplicar la var34(Desviación Media Absoluta del segmento f) por la var54(Mediana del Primer Bloque) y la var35(Desviación Media Absoluta del Segundo Bloque) por la var43(Promedio de segmento c) se obtienen dos nuevas variables que resultan las más óptimas para generar un modelo de machine learning. Logrando disminuir la dimensión hasta solo dos dimensiones.



- Después con estas dos nuevas variables resultado de la multiplicación de las cuatro anteriores se generó un modelo de machine learning (Support Vector Machine) al que denominados “Neuron_class_SVM” que arrojo un ~95% de precisión al clasificar los datos de entrenamiento, mientras que al probar el mismo modelo contra “nuevos” datos o los correspondientes al set de prueba este arrojo una precisión de ~91% lo cual se observa en la siguiente matriz de confusión.



- A continuación, y haciendo uso de las predicciones de clase arrojadas por el modelo anterior más la variable que corresponde a los tiempos de duración del rascado, se crearon dos modelos del tipo árbol de decisiones a los que denominamos “Moment1Tree y Moment2Tree” que se ajustan a los “momentos” dados por el set de entrenamiento en los que las dos clases de neuronas primero cambian su actividad y en un segundo momento vuelven a su actividad basal. La precisión de ambos se resume en las siguientes gráficas. Recordando que 1 es igual al inicio del rascado ficticio y 2 al final del mismo. (R=Correlación de Pearson; valor de p; MSE=error cuadrático medio).



9 Conclusiones

Las neuronas de la formación reticular y médula espinal establecen una actividad correlacionada durante el rascado ficticio. Los resultados sugieren que el generador central de patrones del rascado ficticio se activa en una fina secuencia temporal retículoespinal activando neuronas interconectadas de la formación reticular y de la médula espinal. Además, el modelo de machine learning generado sugiere que al igual que en él, el sistema nervioso central podría ser capaz de codificar eficientemente las estadísticas ambientales con la diferencia de que este lo haría de una forma no supervisada.

10 Bibliografía

- Afifi, A. K., & Bergman Ronald A. (2005). Neuroanatomía funcional; texto y atlas. En *McGraw-Hill*.
- Aguilar Garcia, I. G., Dueñas-Jiménez, J. M., Castillo, L., Osuna-Carrasco, L. P., De La Torre Valdovinos, B., Castañeda-Arellano, R., López-Ruiz, J. R., Toro-Castillo, C., Treviño, M., Mendizabal-Ruiz, G., & Duenas-Jimenez, S. H. (2020). Fictive Scratching Patterns in Brain Cortex-Ablated, Midcollicular Decerebrate, and Spinal Cats. *Frontiers in Neural Circuits*, 14. <https://doi.org/10.3389/fncir.2020.00001>
- Aoki, M., & Mori, S. (1981). Locomotion elicited by pinna stimulation in the acute precollicular-post-mammillary decerebrate cat. *Brain Research*, 214(2). [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)91206-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)91206-3)
- Araki, T., Endo, K., Kawai, Y., Ito, K., & Shigenaga, Y. (1976). Supraspinal Control of Slow and Fast Spinal Motoneurons of the Cat. *Progress in Brain Research*, 44(C). [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)60749-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)60749-9)
- Armstrong, D. M. (1988). The supraspinal control of mammalian locomotion. *The Journal of Physiology*, 405(1). <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1988.sp017319>
- Atzori, M., & Henning, M. (2019). Pawfe: Fast signal feature extraction using parallel time windows. *Frontiers in Neurorobotics*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnbot.2019.00074>
- Bargmann, C. I. (2012). Beyond the connectome: How neuromodulators shape neural circuits. *BioEssays*, 34(6). <https://doi.org/10.1002/bies.201100185>
- Bastos, A. M., Vezoli, J., Bosman, C. A., Schoffelen, J. M., Oostenveld, R., Dowdall, J. R., DeWeerd, P., Kennedy, H., & Fries, P. (2015). Visual areas exert feedforward and feedback influences through distinct frequency channels. *Neuron*, 85(2). <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.12.018>
- Bear, M., Connors, B., & Paradiso, M. (2014). Book. Neuroscience Exploring the Brain. En *Lippincott Williams & Wilkins* (Número 1).
- Belmar, B. (2022). *Las vesículas sinápticas*. Estructura, desarrollo y funciones del sistema nervioso. http://www7.uc.cl/sw_educ/neurociencias/html/055.html
- Berkinblit, M. B., Deliagina, T. G., Feldman, A. G., Gelfand, I. M., & Orlovsky, G. N. (1978). Generation of scratching. I. Activity of spinal interneurons during scratching. *Journal of Neurophysiology*, 41(4). <https://doi.org/10.1152/jn.1978.41.4.1040>

- Bican, O., Minagar, A., & Pruitt, A. A. (2013). The Spinal Cord. A Review of Functional Neuroanatomy. En *Neurologic Clinics* (Vol. 31, Número 1).
<https://doi.org/10.1016/j.ncl.2012.09.009>
- Boron, W. . (2015). Fisiología médica . En *Barcelona: Vol. 3 Ed* (Número Elsevier).
- Brown, A. G. (1981). Organization in the Spinal Cord. En *Organization in the Spinal Cord*.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4471-1305-8>
- Costa, A., Argus, A., Pisetta, F., & Evangelista, A. (2020). Basic background in reflex physiology. *Journal of Molecular Pathophysiology*, 9(1).
<https://doi.org/10.5455/jmp.20200107080528>
- Cuellar, C. A., Trejo, A., Linares, P., Delgado-Lezama, R., Jiménez-Estrada, I., Abyazova, L. M., Baltin, T. V., & Manjarrez, E. (2014). Spinal neurons bursting in phase with fictive scratching are not related to spontaneous cord dorsum potentials. *Neuroscience*, 266.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.02.003>
- Cuellar, Carlos A., De La Torre Valdovinos, B., Huidobro, N., Delgado-Lezama, R., Ornelas-Kobayashi, R., & Manjarrez, E. (2018). The spinal neurons exhibit an ON-OFF and OFF-ON firing activity around the onset of fictive scratching episodes in the cat. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00068>
- Cuellar, Carlos A., Tapia, J. A., Juárez, V., Quevedo, J., Linares, P., Martínez, L., & Manjarrez, E. (2009). Propagation of sinusoidal electrical waves along the spinal cord during a fictive motor task. *Journal of Neuroscience*, 29(3). <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3408-08.2009>
- Feher, J. (2012). Quantitative Human Physiology: An Introduction. En *The American Journal of the Medical Sciences* (Vol. 243, Número 4).
- Fernandez, N. (2011). *Manual de Laboratorio de Fisiología*. Mcgraw-Hill Interamerican.
- Flovik, V. (2020). *What is Graph Theory, and why should you care?* Towardsdatascience.
<https://towardsdatascience.com/what-is-graph-theory-and-why-should-you-care-28d6a715a5c2>
- Getting, P. A. (1989). Emerging principles governing the operation of neural networks. En *Annual review of neuroscience* (Vol. 12).
<https://doi.org/10.1146/annurev.ne.12.030189.001153>
- Grillner, S., Ekeberg, Ö., El Manira, A., Lansner, A., Parker, D., Tegnér, J., & Wallén, P. (1998). Intrinsic function of a neuronal network - A vertebrate central pattern generator. *Brain*

- Research Reviews*, 26(2–3). [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(98\)00002-2](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(98)00002-2)
- Gutierrez, G. J., O’Leary, T., & Marder, E. (2013). Multiple mechanisms switch an electrically coupled, synaptically inhibited neuron between competing rhythmic oscillators. *Neuron*, 77(5). <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.01.016>
- Gutiérrez, J. (2020). *Caracterización de la distribución rostrocaudal y del retraso de fase de sincronía de interneuronas ON-OFF y OFF-ON espinales durante el rascado ficticio en el gato espinalizado*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Henneman, E. (1957). Relation between size of neurons and their susceptibility to discharge. *Science*, 126(3287). <https://doi.org/10.1126/science.126.3287.1345>
- Hildebrand, J. G., & Shepherd, G. M. (1997). Mechanisms of olfactory discrimination: Converging evidence for common principles across phyla. En *Annual Review of Neuroscience* (Vol. 20). <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.20.1.595>
- Hultborn, H., & Nielsen, J. B. (2007). Spinal control of locomotion - From cat to man. *Acta Physiologica*, 189(2). <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2006.01651.x>
- Jankowska, E., Rastad, J., & Zarzecki, P. (1979). Segmental and supraspinal input to cells of origin of non-primary fibres in the feline dorsal columns. *The Journal of Physiology*, 290(2). <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1979.sp012767>
- Jennings, H. S., & Reighard, J. (2012). Anatomy of the cat,. En *Anatomy of the cat*,. H. Holt and Company,. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.54000>
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., & Jessell, T. M. (2000). Principles of Neural Science, fourth addition. *McGraw-Hill Companies*, 4.
- Kay, L. M. (2015). Olfactory system oscillations across phyla. En *Current Opinion in Neurobiology* (Vol. 31). <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.10.004>
- Kay, L. M., & Stopfer, M. (2006). Information processing in the olfactory systems of insects and vertebrates. En *Seminars in Cell and Developmental Biology* (Vol. 17, Número 4). <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2006.04.012>
- Kiehn, O. (2006). Locomotor circuits in the mammalian spinal cord. En *Annual Review of Neuroscience* (Vol. 29). <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112910>
- Kiehn, O. (2016). Decoding the organization of spinal circuits that control locomotion. En *Nature Reviews Neuroscience* (Vol. 17, Número 4). <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.9>
- Knierim, J. (2022). *Motor Units and Muscle Receptors (Section 3, Chapter 1)*. Neuroscience Online. <https://nba.uth.tmc.edu/neuroscience/m/s3/chapter01.html>

- König, H. E., & Liebich, H. G. (2005). *Anatomía de los animales domésticos : texto y atlas en color. 1. Aparato locomotor*. Médica Panamericana.
<https://books.google.co.id/books?id=nB2oeBF4HMUC>
- Liang, H., Paxinos, G., & Watson, C. (2012). Spinal projections from the presumptive midbrain locomotor region in the mouse. *Brain Structure and Function*, 217(2).
<https://doi.org/10.1007/s00429-011-0337-6>
- Maier, G., Schneider, W., Schrefler, B., Serafini, P., Arena, P., & Salençon, J. (2008). Dynamical Systems, Wave-Based Computation and Neuro-Inspired Robots. En *Dynamical Systems, Wave-Based Computation and Neuro-Inspired Robots*. <https://doi.org/10.1007/978-3-211-78775-5>
- Marder, E., & Calabrese, R. L. (1996). Principles of rhythmic motor pattern generation. En *Physiological Reviews* (Vol. 76, Número 3). <https://doi.org/10.1152/physrev.1996.76.3.687>
- Martin, J., Radzyner, H., Leonard, M., & Arias Rebatet, G. (2012). *Neuroanatomía funcional*. MacGraw-Hill.
- Masse, N. Y., Turner, G. C., & Jefferis, G. S. X. E. (2009). Olfactory Information Processing in *Drosophila*. En *Current Biology* (Vol. 19, Número 16).
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.06.026>
- MathWorks. (s/f). *Mastering Machine Learning: A Step-by-Step Guide with MATLAB*.
 MathWorks. <https://la.mathworks.com/campaigns/offers/mastering-machine-learning-with-matlab.html>
- McCrea, D. A., & Rybak, I. A. (2008). Organization of mammalian locomotor rhythm and pattern generation. En *Brain Research Reviews* (Vol. 57, Número 1).
<https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.08.006>
- Mendell, L. M. (2005). The size principle: A rule describing the recruitment of motoneurons. En *Journal of Neurophysiology* (Vol. 93, Número 6).
<https://doi.org/10.1152/classicessays.00025.2005>
- Meza, R., Huidobro, N., Moreno-Castillo, M., Mendez-Fernandez, A., Flores-Hernandez, J., Flores, A., & Manjarrez, E. (2019). Resetting the respiratory rhythm with a spinal central pattern generator. *eNeuro*, 6(2). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0116-19.2019>
- Michalareas, G., Vezoli, J., van Pelt, S., Schoffelen, J. M., Kennedy, H., & Fries, P. (2016). Alpha-Beta and Gamma Rhythms Subserve Feedback and Feedforward Influences among Human Visual Cortical Areas. *Neuron*, 89(2). <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.12.018>

- Minitab Support. (2020). *Interpret the key results for Cross Correlation*. Minitab Support.
https://support.minitab.com/en-us/minitab/19/help-and-how-to/statistical-modeling/time-series/how-to/cross-correlation/interpret-the-results/key-results/?fbclid=IwAR2LcqI4wX9fyH2SUAasz_FIsnwFVxY537DKP9LNjcOuZG8eOAJYZA44LsrU
- Moreno-Castillo, M., Meza, R., Romero-Vaca, J., Huidobro, N., Méndez-Fernández, A., Martínez-Castillo, J., Mabil, P., Flores, A., & Manjarrez, E. (2020). The Hemodynamic Mass Action of a Central Pattern Generator. *Frontiers in Neuroscience, 14*.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00038>
- Nabriya, P. (2021). *Feature Engineering on Time-Series data*. Medium.
<https://towardsdatascience.com/feature-engineering-on-time-series-data-transforming-signal-data-of-a-smartphone-accelerometer-for-72cbe34b8a60>
- Ojeda Sahagún, J., & Icardo de la Escalera, J. (2004). *Neuroanatomía humana*. Masson.
- Orlovskii, G. N., Severin, F. V., & Shik, M. L. (1966). Lokomotsiya, vyzhyvaemaya stimulyatsiei srednego mozga. [Locomotion produced through stimulation of the mesencephalon.]. En *Doklady Akademii Nauk SSSR* (Vol. 169, Número 5, pp. 1223–1226).
- Patil, P. (2018). *What is Exploratory Data Analysis?* Medium.
<https://towardsdatascience.com/exploratory-data-analysis-8fc1cb20fd15>
- Popov, T., & Szyszka, P. (2020). Alpha oscillations govern interhemispheric spike timing coordination in the honey bee brain. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 287*(1921). <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0115>
- Pratt, C. A., Chanaud, C. M., & Loeb, G. E. (1991). Functionally complex muscles of the cat hindlimb - IV. Intramuscular distribution of movement command signals and cutaneous reflexes in broad, bifunctional thigh muscles. *Experimental Brain Research, 85*(2).
<https://doi.org/10.1007/BF00229407>
- Pyzza, P. B., Newhall, K. A., Kovačič, G., Zhou, D., & Cai, D. (2021). Network mechanism for insect olfaction. *Cognitive Neurodynamics, 15*(1). <https://doi.org/10.1007/s11571-020-09640-3>
- Quiroga, R. Q., Nadasdy, Z., & Ben-Shaul, Y. (2004). Unsupervised spike detection and sorting with wavelets and superparamagnetic clustering. *Neural Computation, 16*(8).
<https://doi.org/10.1162/089976604774201631>
- Rosenzweig, M. R., & Bennett, E. L. (1996). Psychobiology of plasticity: Effects of training and

- experience on brain and behavior. *Behavioural Brain Research*, 78(1).
[https://doi.org/10.1016/0166-4328\(95\)00216-2](https://doi.org/10.1016/0166-4328(95)00216-2)
- Rybak, I. A., Dougherty, K. J., & Shevtsova, N. A. (2015). Organization of the mammalian locomotor CPG: Review of computational model and circuit architectures based on genetically identified spinal interneurons. En *eNeuro* (Vol. 2, Número 5).
<https://doi.org/10.1523/ENEURO.0069-15.2015>
- Ryczko, D., & Dubuc, R. (2013). The Multifunctional Mesencephalic Locomotor Region. *Current Pharmaceutical Design*, 19(24). <https://doi.org/10.2174/1381612811319240011>
- Sakurai, A., & Katz, P. S. (2003). Spike Timing-Dependent Serotonergic Neuromodulation of Synaptic Strength Intrinsic to a Central Pattern Generator Circuit. *Journal of Neuroscience*, 23(34). <https://doi.org/10.1523/jneurosci.23-34-10745.2003>
- Sakurai, A., & Katz, P. S. (2017). Artificial Synaptic Rewiring Demonstrates that Distinct Neural Circuit Configurations Underlie Homologous Behaviors. *Current Biology*, 27(12).
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.016>
- Sakurai, A., & Katz, P. S. (2022). Bursting emerges from the complementary roles of neurons in a four-cell network. *bioRxiv*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1101/2021.08.05.455351>
- Sebastiani, A., & Fishbeck, D. (2005). *Mammalian anatomy: the cat* (2nd ed.). Morton Publishing Company.
- Sharma, S., Kim, L. H., & Whelan, P. J. (2019). Towards a connectome of descending commands controlling locomotion. En *Current Opinion in Physiology* (Vol. 8).
<https://doi.org/10.1016/j.cophys.2018.12.005>
- Sherrington, C. (1917). Reflexes elicitable in the cat from pinna vibrissae and jaws. *The Journal of Physiology*, 51(6), 404-431.
- Snell, R. (2003). *Neuroanatomía Clínica*. Médica panamericana.
- Sporns, O. (2011). The human connectome: A complex network. En *Annals of the New York Academy of Sciences* (Vol. 1224, Número 1). <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05888.x>
- Strausfeld, N. J., & Hirth, F. (2016). Introduction to 'Homology and convergence in nervous system evolution'. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1685). <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0034>
- Tapia, J. A., Trejo, A., Linares, P., Alva, J. M., Kristeva, R., & Manjarrez, E. (2013). Reticular activating system of a central pattern generator: Premovement electrical potentials.

Physiological Reports, 1(5). <https://doi.org/10.1002/phy2.129>

Traven, H. G. C., Brodin, L., Lansner, A., Ekeberg, O., Wallen, P., & Grillner, S. (1993).

Computer simulations of NMDA and non-NMDA receptor-mediated synaptic drive: Sensory and supraspinal modulation of neurons and small networks. *Journal of Neurophysiology*, 70(2). <https://doi.org/10.1152/jn.1993.70.2.695>

Trejo, A., Tapia, J. A., De la Torre Valdovinos, B., Huidobro, N., Flores, G., Flores-Hernandez, J., Flores, A., & Manjarrez, E. (2015). Transition of pattern generation: The phenomenon of post-scratching locomotion. *Neuroscience*, 288.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.12.038>

Wallén, P., & Williams, T. L. (1984). Fictive locomotion in the lamprey spinal cord in vitro compared with swimming in the intact and spinal animal. *The Journal of Physiology*, 347(1). <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1984.sp015063>

Weeks, J. C. (1981). Neuronal basis of leech swimming: Separation of swim initiation, pattern generation, and intersegmental coordination by selective lesions. *Journal of Neurophysiology*, 45(4). <https://doi.org/10.1152/jn.1981.45.4.698>

Weimann, J. M., & Marder, E. (1994). Switching neurons are integral members of multiple oscillatory networks. *Current Biology*, 4(10). [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(00\)00199-8](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(00)00199-8)

Wikipedia. (2022). *PageRank*. <https://es.wikipedia.org/wiki/PageRank>

Wilson, D. M. (1961). The Central Nervous Control of Flight in a Locust. *Journal of Experimental Biology*, 38(2), 471–490. <https://doi.org/10.1242/jeb.38.2.471>

11 Anexos

El siguiente enlace da acceso a los distintos códigos que fueron implementados durante el análisis de datos.

https://drive.google.com/drive/folders/1shyd-IGkWA_VN6eTzIDeOVtGNcXT2YFz