



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA, HISTOLOGÍA Y
NEUROCIENCIA

**MODULACIÓN CORTICOFUGAL DE LAS
RESPUESTAS SOMATOSENSORIALES DE LOS
NÚCLEOS DE LA COLUMNA DORSAL**

Tesis Doctoral

Eduardo Malmierca Corral

Dirigida por Ángel Núñez Molina

Madrid 2006

$$E=mc^2$$

Albert Einstein

Dedicado al mar porque, a veces, devuelve cosas.

ÍNDICE

	Página
Introducción	9
1.- Somestesia	11
2.- Receptores	12
3.- Vías ascendentes somestésicas: Vía cordonal posterior	13
4.- Vías ascendentes somestésicas: Sistema anterolateral	15
5.- Núcleos de la Columna Dorsal	16
6.- Tálamo y Corteza somestésica	21
7.- Campos receptivos en la vía somestésica	23
8.- Proyección de la corteza a los NCD	25
9.- Nocicepción	27
Hipótesis de Trabajo y Objetivos	33
Material y métodos	37
1.- Animales de experimentación	39
2.- Preparaciones quirúrgicas	39
3.- Registros en los NCD	40
4.- Estimulación somestésica	51
6.- Estimulación del lemnisco medio	42
7.- Aplicación de antagonistas de neurotransmisores	42
8.- Estimulación dolorosa	43
9.- Decorticación	43
10.- Análisis de los datos	44
Resultados	47
1.- Poblaciones neuronales y respuestas somatosensoriales	49
2.- Estimulación cortical	53
3.- Efecto de la estimulación cortical sobre las respuestas táctiles.	57
4.- Curso temporal de los efectos de estimulación cortical	60
5.- Efecto de la estimulación cortical sobre los CRs de las neuronas del núcleo gracil	63
6.- Efecto de la estimulación cortical sobre la estimulación táctil con pares de pulsos	64
7.- Efecto de la estimulación cortical sobre la actividad rítmica de las neuronas de los NCD.	66
8.- Efecto de la decorticación del área SI sobre la actividad de las neuronas del núcleo gracil.	69
9.- Mecanismos implicados en la generación de la facilitación e inhibición corticofugal.	70

10.- Influencia cortical en la respuesta táctil durante la estimulación dolorosa con formalina.	72
DISCUSIÓN	77
1.- Caracterización electrofisiológica de las neuronas de los NCD	78
2.- Estimulación cortical	81
3.- Efecto de la estimulación cortical sobre las respuestas táctiles	84
4.- Control cortical de las respuestas táctiles en los NCD	87
5.- Control cortical de la actividad oscilatoria de las neuronas de los NCD	90
6.- Consideraciones funcionales	91
CONCLUSIONES	95
BIBLIOGRAFÍA	99

INTRODUCCIÓN

1.- Somestesia

El sistema somatosensorial se define como el sustrato anatómico y fisiológico de la percepción de los estímulos somáticos y su localización en el cuerpo. Se distinguen cuatro modalidades somestésicas: tacto, propiocepción, nocicepción y sensación térmica. El tacto es la modalidad que permite percibir los estímulos mecánicos que no producen daño a nuestro sistema. La propiocepción nos permite conocer en todo momento la posición de la musculatura voluntaria y sistemas tendinosos así como su estado de contractilidad, consiguiendo así informar con precisión de la postura del cuerpo. La nocicepción detecta y localiza los estímulos externos capaces de producir lesiones en nuestro organismo. Por último, también somos capaces de conocer la temperatura ambiental o de los objetos externos gracias a la sensación térmica.

La percepción somestésica proviene de la activación de una variedad de receptores periféricos distribuidos en la piel, los músculos y las paredes viscerales. Las distintas modalidades comparten, en gran medida, las mismas vías y las estaciones de relevo para conducir y procesar los estímulos generados en los receptores periféricos. Esta confluencia de las distintas modalidades en varios puntos del Sistema Nervioso Central (SNC) hacen posible las interacciones excitatorias e inhibitorias entre ellas, que ocurre de forma natural, pero que se pueden también inducir para tratar algunas afecciones, como el dolor crónico.

Tanto en la clínica como en el estudio del sistema somatosensorial se distinguen dos tipos de sensación táctil: la epicrítica y la protopática. La sensación epicrítica es la del tacto fino y está mediada por receptores encapsulados. Incluye la topognosia o habilidad para localizar la posición del objeto que se toca; la sensibilidad vibratoria para sentir la vibración y discernir la frecuencia y la amplitud de la misma; la capacidad para discriminar como separados dos puntos que se tocan simultáneamente; y la esterognosia o habilidad para reconocer la forma de los objetos que se manipulan. La sensación protopática es la del tacto grosero, nos informa de que cierta región anatómica está siendo tocada, con muy poca capacidad de discriminar las propiedades del objeto. Está íntimamente relacionada con las sensaciones de la temperatura y el dolor. Cada uno de estos tipos de sensación táctil tienen su correlato anatómico en las dos principales vías de información somestésica ascendente: la vía cordonal posterior y el sistema anterolateral.

En nuestra vida diaria la información propioceptiva es recibida de una manera continua. Resulta imprescindible en la gran mayoría de las tareas que realizamos, hasta tal punto que su disfunción acarrea la imposibilidad de realizar movimientos eficaces. Sin las entradas propioceptivas somos incapaces de caminar, de manipular objetos, de mantener la postura o de masticar. La ausencia total de propiocepción para el ser humano es incompatible con la vida autónoma del mismo.

La sensación del dolor y la temperatura resultan también fundamentales en nuestra vida. La tentación de despreciar la sensación dolorosa como parte fundamental de nuestra fisiología desaparece cuando observamos, por ejemplo, a enfermos de lepra o diabéticos que han perdido esta capacidad y tienen grandísimos problemas: las heridas e infecciones aparecen por pequeños traumatismos continuados o quemaduras no percibidas. En cualquier caso el dolor es una sensación compleja que requiere una elaboración importante. Las demás modalidades somestésicas presentan, dentro de la habitual variabilidad biológica, una constancia interindividual. Sin embargo, el dolor es altamente variable pues tiene de forma muy clara un componente emocional de procesamiento en niveles superiores. Ya Cajal apuntó que cualquier receptor somestésico sometido a estímulos extremos podría transmitir información dolorosa (Cajal 1904).

2.- Receptores

El sistema táctil utiliza diversos tipos de receptores periféricos para transformar la estimulación sobre la piel en estímulos eléctricos. La especialización de los receptores periféricos es múltiple para garantizar la eficacia en la recepción de los distintos aspectos del tacto como son la presión, la textura, la vibración o el estiramiento de la piel. Estos mecanorreceptores no suelen generar potenciales de acción en reposo y sólo disparan cuando se les estimula con el estímulo apropiado. Se pueden dividir en dos tipos: los receptores de adaptación lenta y los de adaptación rápida.

Los de adaptación lenta producen potenciales de acción durante todo el tiempo que dura el estímulo; de forma general son terminaciones nerviosas invaginadas dentro de células dérmicas especializadas. Identificamos sobre todo dos tipos de receptores: corpúsculos de Merkel y de Ruffini. Los corpúsculos de Merkel responden a deformaciones de la piel que ocurren directamente sobre el receptor y por tanto localizan muy bien dónde está

localizada la presión. Los receptores de Ruffini responden a pequeños desplazamientos de la piel y por tanto no localizan el estímulo con tanta precisión.

Los receptores de adaptación rápida disparan sólo al comienzo del estímulo, por eso son adecuados para detectar estímulos rápidos y transitorios, y para detectar la dirección de un estímulo en movimiento sobre la piel. Los más característicos son los corpúsculos de Meissner, Pacini y los receptores de los folículos pilosos, aunque hay una gran variedad de receptores de adaptación rápida. Los receptores de Meissner responden a deformaciones rápidas de la piel, mientras que los de Pacini, de estructura compleja en forma de láminas que envuelven una terminación nerviosa como en capas de cebolla, responden a la estimulación vibratoria (Delgado y cols. 1998).

El estímulo propioceptivo se genera en los husos neuromusculares, en las cápsulas articulares, en el órgano de Golgi de los tendones y en terminaciones libres. Se vehicula por fibras tipo Ia, Ib, II y en menor medida III. Las neuronas de estas fibras son también bipolares y sus somas están en los ganglios raquídeos. La prolongación central asciende por el cordón posterior, tras dejar colaterales en distintos segmentos medulares.

La nocicepción es recogida por receptores que son terminaciones nerviosas libres. Los nociceptores responden a estímulos dolorosos directos y también a determinadas sustancias (bradiquinina, sustancia P, pH bajo, ATP, serotonina y acetilcolina) que son liberadas en las áreas lesionadas por las células afectas. En ese sentido son verdaderos quimiorreceptores que pueden estimularse por sustancias internas o por irritantes externos que pueden atravesar la piel en situaciones de lesión. Los estímulos eléctricos son conducidos hacia el SNC por fibras tipo A δ y C. Las somas de estas neuronas están una vez más en el ganglio raquídeo. La prolongación central va hacia la médula donde hace sinapsis y asciende por el sistema anterolateral contralateral.

En cuanto a la sensación térmica sus receptores son también terminaciones libres. A diferencia de los mecanoreceptores, tienen una descarga tónica que aumenta o disminuye según se aproxime al rango de temperatura que un determinado receptor está especializado en sentir. De forma análoga a los estímulos dolorosos, los estímulos térmicos son conducidos al SNC por fibras tipo A δ y C y ascienden fundamentalmente por el sistema anterolateral contralateral.

Por tanto, los potenciales de acción generados en los receptores son conducidos hacia la médula espinal por fibras tipo A α , β y en menor medida A δ y C. Estas fibras son la prolongación periférica de unas neuronas bipolares cuyos somas están en los ganglios raquídeos (Cajal 1909). Una vez llega la información al ganglio raquídeo asciende hacia áreas superiores del SNC utilizando fundamentalmente dos sistemas: el sistema cordonal posterior y el haz espinotalámico, como se indicó anteriormente.

3.- Vías ascendentes somatosensoriales: Vía cordonal posterior.

Estas fibras son del tipo A α , β y en menor medida A δ . Un 20-30% de las prolongaciones centrales de las neuronas ganglionares asciende por el cordón posterior de la médula sin realizar sinapsis hasta los núcleos de la columna dorsal (NCD), aunque deja colaterales en el asta posterior de la médula (Cajal 1909; Rustioni y Weinberg 1989; Willis y Coggeshall 1991). La información llega pues a estos núcleos desde los receptores periféricos sin haberse modificado por el procesamiento sensorial. Las colaterales que deja en el asta posterior forman una arborización dendrítica muy densa (Cajal 1909) que asciende y desciende varios segmentos medulares; en el gato se ha descrito que pueden llegar hasta 14 segmentos de distancia del punto de entrada (Culberson y Brown 1984). En el cordón posterior las fibras se organizan somatotópicamente de manera que los segmentos medulares más caudales ocupan posiciones más mediales. Hay una clara partición anatómica, visible macroscópicamente en el cordón posterior. Así la información de los segmentos medulares coccígeos, sacros, lumbares y torácicos bajos (hasta T7) forman el fascículo grácil o de Goll y los torácicos altos junto con los cervicales el fascículo cuneatus o de Burdach. Cada fascículo lleva la información hasta el NCD correspondiente (grácil o cuneatus) donde, tras ser procesada, asciende hacia el tálamo.

Los axones de las neuronas de proyección de los NCD se unen formando un tracto que es el lemnisco medial que, en el propio bulbo, se decusa y asciende por el tronco del encéfalo para llevar la información hasta el tálamo (Busch 1961; Kuypers y Tuerk 1964; Graybiel 1972). Allí, en el núcleo ventral posterolateral, nuevamente se procesa la información y es llevada por las fibras tálamo-corticales a la corteza somestésica primaria (SI) y posteriormente a la corteza somestésica secundaria (SII).

4.- Vías ascendentes somatosensoriales: Sistema anterolateral.

Este sistema vehicula la información táctil menos precisa, la información térmica y la nociceptiva. Las primeras neuronas están también en los ganglios raquídeos, de soma más pequeño y prolongaciones periféricas más finas y muchas de ellas amielínicas por tanto, debido a su velocidad de conducción, es un sistema más lento. Las prolongaciones centrales de estas primeras neuronas se unen formando el tracto de Lissauer para penetrar en las láminas más superficiales del asta posterior de la médula. Las neuronas de la zona marginal y de la sustancia gelatinosa (láminas I y II) responden casi exclusivamente a estímulos termoalgésicos. La información asciende hacia el tálamo utilizando el cuadrante anterolateral del cordón medular contralateral. Esta información asciende tras haber realizado al menos una sinapsis en la médula espinal donde se produce un primer procesamiento de la información. La información sensorial conserva la somatotopía en su ascenso hacia niveles superiores del SNC (Mehler 1969; Willis y Coggeshall 1991; Willis et al. 1995).

Dentro del sistema anterolateral podemos distinguir varios haces de fibras:

a.- El haz espinotalámico, es el de mayor grosor y lleva axones de las neuronas de proyección tanto específicas para el dolor como de amplio rango dinámico de las láminas I y V-VII de la médula. Llega al tálamo sin sinapsis intermedias.

b.- El haz espinoreticular, lleva axones de las láminas VII y VIII y termina tanto en la formación reticular como en el tálamo. A diferencia del espinotalámico muchos de sus axones ascienden ipsilateralmente.

c.- El haz espinomesencefálico lleva axones de las láminas I y V lleva información hacia la formación reticular mesencefálica, la sustancia gris periacueductal y, a través del haz espinoparabraquial, a los núcleos parabraquiales. A su vez los núcleos parabraquiales proyectan a la amígdala, componente fundamental del aspecto emocional del dolor, por lo que se piensa que es este haz el que vehicula la información que hace percibir el dolor como sufrimiento. Muchas fibras de este haz están localizadas en áreas dorsales del cordón anterior por lo que, en caso de que se someta a un paciente a cordotomía anterolateral para aliviar el dolor, este puede no aliviarse o recurrir.

d.- El haz cervicotalámico se origina en el núcleo cervical lateral que recibe información nociceptiva de las láminas III y IV de los 2 segmentos

medulares superiores. La mayoría de los axones que parten de este núcleo se decusan y ascienden con el lemnisco medio dejando colaterales en el tronco y llegando a los núcleos posteromediales del tálamo. Algunos axones sin embargo, ascienden por el cordón posterior y terminan en los NCD.

e.- El haz espinohipotálamico contiene axones de las láminas I, V y VIII y proyecta directamente a centros supraespinales de control autonómico.

Por tanto, vemos que desde la médula espinal la información somatosensorial llega al tálamo, en parte directamente (vía espinotalámica) pero también polisinápticamente a través de distintas estructuras del tronco (vías espinoreticular y espinomesencefálica). La información de la vía espinotalámica llega al núcleo ventral posterolateral del tálamo, sin embargo la información de las otras dos vías llega al tálamo a los núcleos intralaminar y posterior, y también a otros centros no talámicos como el hipotálamo (Boivie 1971; Craig y Burton 1985; Jones 1985; Hirai y Jones 1988; Rausell et al. 1992). Desde el tálamo esta información asciende a la corteza somestésica primaria (SI) y secundaria (SII) (Macchi et al. 1959; Guillery et al. 1966; Jones y Powell 1968; Jones y Burton 1976; Spreafico et al. 1981; Burton y Kopf 1984; Rausell y Avendaño 1985).

Los dos sistemas ascendentes fundamentales (vía cordonal posterior y anterolateral) se interrelacionan entre sí en los NCD, en el tálamo y en la corteza. En los NCD la relación ocurre a través de proyecciones desde distintos núcleos del tronco del encéfalo hacia los NCD y, mediante un solapamiento parcial de las aferentes en el núcleo ventral posterolateral del tálamo y en la corteza SI. Estas relaciones podrían tener mucho valor en aspectos importantes de la génesis del dolor, como veremos más adelante.

5.- Núcleos de la Columna Dorsal

Se han descrito 5 núcleos de la columna dorsal, situados a cada lado de la línea media, localizados en la región caudal y dorsal del bulbo raquídeo. Se denominan gracil (o de Goll), cuneatus (o de Burdach), cuneatus externo, núcleo X y núcleo Y. En este trabajo, con el término NCD me referiré siempre a los núcleos gracil y cuneatus.

Los estudios anatómicos han revelado dos tipos fundamentales de neuronas: neuronas de proyección e interneuronas (Kuypers et al. 1961; Andersen et

al. 1964b; Kuypers y Tuerk 1964; Propratiloff et al. 1997; Deuchars et al. 2000). Dentro de las interneuronas se distinguen tres tipos: GABAérgicas, glicinérgicas y un tercer tipo en el que se encuentran ambos neurotransmisores (Rustioni et al. 1984; Heino y Westman 1991; Propratiloff y cols. 1996). Las neuronas triangulares y multipolares distribuidas en el espacio entre los cúmulos o glomérulos neuronales, son mayoritariamente de proyección intranuclear, aunque algunas de ellas envían axones al tálamo a través del lemnisco medial (Cheema, Whitsel et al. 1983). De proyección intranuclear son también las pequeñas neuronas, probablemente GABAérgicas, que se encuentran mayoritariamente entre los cúmulos y algunas veces dentro de los mismos.

Las células GABAérgicas hacen sinapsis en regiones proximales de las neuronas de proyección (Lue et al. 1994) y también con otras neuronas GABAérgicas y glicinérgicas tanto en los axones como en las dendritas (Lue et al. 1994, 2001).

Al igual que sus aferentes en los cordones posteriores, las neuronas de relevo y de cada submodalidad sensorial en particular, tienen una organización somatotópica y una localización específica en los NCD (Kaas 1988). Los axones de las neuronas de los NCD cruzan la línea media formando el lemnisco medial y terminan, en su gran mayoría, en la división lateral del núcleo ventral posterolateral (VPL) del tálamo contralateral (tercera neurona de la vía somatosensorial).

Las aferencias principales que reciben los NCD son: fibras ascendentes de la columna dorsal que contactan tanto con las neuronas de proyección como con las interneuronas (Rustioni y Weinberg, 1989; DeBiasi et al., 1994; Lue et al., 1996), fibras descendentes corticofugales que provienen de SI y en menor medida de SII y corteza motora (Kuypers y Tuerk 1964, Canedo y Aguilar 2000), y fibras que provienen del tronco del encéfalo (Rustioni y Weinberg, 1989). Las entradas periféricas se dividen en fibras aferentes primarias y no primarias. Casi todas las fibras primarias son mielinizadas rápidas, de gran diámetro (Willis y Coggeshall 1991; Giuffrida y Rustioni 1992). Las fibras aferentes no primarias se originan en neuronas del asta dorsal de la médula espinal, en las láminas III, IV y V y viajan por el fascículo dorsal o el dorsolateral para terminar en los NCP (Willis y Coggeshall 1991).

Las fibras ascendentes de la vía cordonal posterior son fundamentalmente glutamatérgicas (Banna y Jabbur 1989; Broman 1994; DeBiasi et al 1994)

aunque también se han observado terminales y fibras inmunoreactivas para sustancia P (Conti, De Biasi et al. 1990) y CGRP (Fabri y Conti 1990), originadas en los ganglios raquídeos. Los receptores de glutamato, tanto del tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) como no-NMDA, son muy abundantes tanto en neuronas de proyección como en interneuronas (Watanabe y cols. 1994; Propratiloff y cols. 1997). Hasta la fecha no se ha detallado su distribución en cada tipo celular, sin embargo, estudios electrofisiológicos a los que me referiré posteriormente han demostrado que diferentes tipos de aferentes a los NCD excitan diferentes receptores glutamatérgicos.

Se han descrito la localización de receptores de glutamato GluR1, GluR2 y GluR3, así como combinaciones GluR1/2 y GluR2/3 en las neuronas de los NCD (Propratiloff et al. 1997). El bloqueo de los receptores tipo AMPA/kainato con 6-ciano-7-nitroquinoxalina-2,3-diona (CNQX) provoca la ausencia de respuesta ante la estimulación de las fibras ascendentes, sin embargo, el empleo de un antagonista de los receptores tipo NMDA, como es el ácido 2D(-)-2-amino-5-fosfonoalérgico (APV), no produce ningún cambio en el EPSP inducido por la estimulación de las fibras ascendentes (Deuchars y cols. 2000; Núñez y Buño, 2001). Estos resultados indican que las aferencias ascendentes a los NCD son glutamatérgicas y emplean exclusivamente receptores tipo AMPA/kainato.

El tronco del encéfalo envía axones a los NCD mediante proyecciones difusas y poco conocidas. Se ha demostrado la presencia de fibras glutamatérgicas, serotoninérgicas y colinérgicas en los NCD (Simon et al., 1981; Henderson y Sheriff 1991, Blomqvist y Broman, 1993; Avendaño y Dykes 1996). La proyección serotoninérgica procede fundamentalmente de los núcleos rafe magnus y rafe obscurus (Weinberg y Rustioni 1989; Blomqvist y Broman 1993), pero su acción y función son desconocidas. La proyección colinérgica procede de neuronas situadas en el tronco del encéfalo a nivel de la formación reticular bulbar y mesencefálica, generando un aumento de la excitabilidad de las neuronas de los NCD (Fernández de Sevilla et al. 2006).

En relación con las proyecciones eferentes de los NCD, la mayoría de las neuronas NCD son de proyección talámica (Kuypers y Tuerk 1964; Cheema, et al. 1983). Fyffe y colaboradores (Fyffe et al. 1986a) utilizaron registros intracelulares y marcado intracelular con HRP para estudiar las neuronas de proyección talámica del núcleo cuneatus. Estas neuronas tienen forma esférica o triangular y la mayoría de estas neuronas se localiza en la zona de los cúmulos. Las neuronas triangulares y multipolares de proyección talámica

tienen, además del axón lemniscal, colaterales que proyectan a los mismos NCD (Cajal 1909; Fyffe, Cheema et al. 1986a), al cerebelo (Gordon y Seed 1961; Berkley, Budell et al. 1986; Rustioni y Weinberg 1989) y a varias regiones del mesencéfalo (Berkley y Hand 1978; Berkley, Budell et al. 1986; Rustioni y Weinberg 1989).

Además de los estudios anatómicos, se han determinado las propiedades electrofisiológicas de las neuronas de los NCD tanto con registros extracelulares como intracelulares. Desde 1963, McComas y otros autores han descrito la respuesta a estímulos táctiles sobre la piel de la pata trasera, en el núcleo gracil de la rata (McComas 1963; Panetsos y cols. 1995, 1997, 1998; Nuñez y cols 2000) y en el gato (Gordon y Paine 1960; Gordon y Seed 1961; Andersen, Eccles y cols. 1964; Gordon y Jukes 1964; Gordon y Miller 1969; Dykes, Rasmusson y cols. 1982; Cole y Gordon 1992). Los estímulos táctiles generan una respuesta en el núcleo gracil de la rata con una latencia que oscila entre 6 y 22 ms (13.0 ± 0.5 ms; McComas 1963). Estos estímulos generan en las fibras aferentes primarias una o dos espigas por estímulo mientras que en las interneuronas del gracil provocan estos mismos estímulos una ráfaga de hasta 9 espigas por estímulo.

Los estudios del patrón de descarga de las neuronas de los NCD han demostrado la existencia de dos tipos de neuronas: las neuronas de proyección, identificadas antidrómicamente por la estimulación del lemnisco medial, presentan en ausencia de estímulos táctiles una baja frecuencia de descarga (<5 Hz) con un patrón de descarga arrítmico (la llamaremos neuronas Tipo I); las posibles interneuronas, no pudieron ser identificadas antidrómicamente por la estimulación del lemnisco medial, tienen de forma espontánea una descarga mayor que las neuronas tipo I (>10 Hz) y con una clara ritmicidad de $13 \pm 0,68$ Hz (neuronas Tipo II; Panetsos y cols. 1997, 1998, Núñez y cols 2000). Durante la estimulación táctil, las neuronas Tipo II descargaron potenciales de acción provocados por los estímulos sensoriales y modificaron sustancialmente su ritmicidad ya que el estímulo táctil provocó el reinicio de la oscilación en una fase constante después del estímulo (reset; Nuñez et al. 2000). Las neuronas de proyección tipo I también dispararon potenciales de acción provocados por el estímulo táctil y, además, cambió su patrón de descarga arrítmica a un patrón rítmico con una frecuencia media de $4,8 \pm 0,23$ Hz que se mantenía durante todo el periodo de estimulación táctil. Esta actividad oscilatoria se sincronizó entre aquellas neuronas tipo I e incluso tipo II que presentaban un campo receptivo (CR) común, lo que permite proponer que su efecto sobre la

siguiente estación de relevo de la vía somestésica, el tálamo, va a ser mayor que los potenciales sinápticos provocados por neuronas de los NCD que no estén incluidas en esta red neuronal rítmica (Nuñez y cols. 2000).

Estudios *in vitro* de las neuronas de los NCD demostraron las propiedades electrofisiológicas de estas neuronas así como sus propiedades sinápticas (Núñez y Buño 1999, 2001). Estos autores demostraron dos tipos de neuronas dependiendo de la presencia de una corriente de Na^+ y K^+ denominada I_Q . Las neuronas de los NCD con I_Q fueron identificadas como neuronas de proyección talámica cuando se inyectó intracelularmente un trazador fluorescente como la carboxifluoresceína, es decir, se trataría de las neuronas tipo I descritas *in vivo*. Estas neuronas se caracterizaron, además, por una descarga rítmica cuando su potencial de membrana se despolarizaba por la inyección de corriente a través del electrodo de registro. Este resultado podría explicar la actividad rítmica de las neuronas tipo I durante la estimulación táctil de su CR en condiciones *in vivo* ya que estas neuronas se despolarizarían por las entradas sinápticas sensoriales provocando la descarga rítmica de estas neuronas. Además, estos autores caracterizaron las respuestas sinápticas de las NCD a estímulos en las fibras de la columna dorsal y en las fibras corticofugales. Como se indicó anteriormente, las respuestas sinápticas provocadas por la estimulación de las fibras ascendentes de la columna dorsal fueron bloqueadas por CNQX indicando que estas fibras actuarían en las neuronas de los NCD mediante la activación de receptores AMPA/kainato. Sin embargo, EPSP inducido por la estimulación de las fibras corticofugales presentó un componente más lento y sensible a voltaje. Este componente fue bloqueado por APV, antagonista de receptores NMDA; el componente rápido de este EPSP se bloqueo con CNQX indicando que las fibras corticofugales activan tanto receptores del tipo AMPA/kainato como los del tipo NMDA (Deuchars y cols. 2000; Núñez y Buño, 2001). La presencia de un componente NMDA en el EPSP generado por la estimulación de las fibras corticofugales provoca fenómenos de plasticidad neuronal que consistían en que la estimulación de las fibras corticofugales provocaba la facilitación de las respuestas sinápticas tanto de otros estímulos en la misma vía como en los EPSPs provocados por la estimulación de las fibras de la columna dorsal (Núñez y Buño, 2001).

6.- Tálamo y Corteza somestésica

En los núcleos talámicos ventral-posteromedial y ventral-posterolateral se encuentran las terminaciones de las vías trigeminal y lemniscal medial, manteniéndose una somatotopía en las terminaciones (Mountcastle y Hennenman 1949, 1952; Dykes et al. 1981; Jones y Friedman 1982; Jones 1985). En la rata, la inmensa mayoría de las células son glutamatérgicas, de proyección hacia la corteza cerebral (Harris, 1986; Salt y Eaton 1989, 1995; Benson et al. 1992; Armstrong-James et al. 1993). Las neuronas de proyección se encuentran en grupos neuronales de menos de 200 μm de diámetro que se tiñen muy bien por su alto contenido citocromo oxidasa (Land y Simons 1985). Estímulos táctiles o eléctricos de pequeña intensidad sobre la piel provocan la descarga de las neuronas talámicas (Rose y Mountcastle 1954; Brown y Waite 1974; Shosaku 1985; Alloway et al. 1994). En la rata, muchos de los estudios se han focalizado en la representación de las vibrisas (Simons y Carvell 1989; Simons et al. 1992). La gran mayoría de las neuronas talámicas responden a una o unas pocas vibrisas adyacentes (Waite 1973; Rhoades et al. 1987; Nicolelis y Chapin 1994). Se han descrito dos tipos de neuronas en el tálamo, según la respuesta a estímulos sensoriales de larga duración: fásicas y tónicas. Las primeras son mayoritarias y responden al comienzo y al final del estímulo, adaptándose su descarga muy rápidamente (respuestas on-off). Las neuronas tónicas responden de una forma continua mientras dura el estímulo sensorial con una pequeña adaptación de la descarga (Poggio y Mountcastle 1960; Yen et al. 1985; Simons y Carvell 1989).

Las neuronas del tálamo de proyección cortical son glutamatérgicas (Harris, 1986; Salt y Eaton 1989, 1995; Benson et al. 1992; Armstrong-James et al. 1993). Su actividad está modulada por neuronas GABAérgicas situadas en el núcleo reticular talámico y, en gatos y primates, también en los núcleos talámicos de relevo cortical (Steriade et al. 1977; Contreras et al. 1993; Lavallee y Deschênes 2004). En cambio, en la rata prácticamente no existen neuronas GABAérgicas en estos núcleos talámicos, dependiendo exclusivamente de la modulación inhibitoria de las neuronas del núcleo reticular talámico (Harris y Hendrickson 1987). La información somatosensorial llega al núcleo reticular talámico a través de colaterales de las neuronas talámicas de proyección cortical (Sugitani 1979; Peschanski et al. 1984; Shosaku et al. 1984). Mediante registros intracelulares se ha demostrado que tanto la estimulación eléctrica del lemnisco medial o la estimulación táctil provoca la generación de EPSPs en las neuronas talámicas seguidos por un IPSP generado por las neuronas del núcleo reticular

talámico o por las interneuronas inhibitorias, en aquellas especies que las poseen, contribuyendo a la discriminación temporal y espacial de las respuestas somatosensoriales (Andersen et al. 1964a,b; Maekawa y Purpura 1967; Sumitomo et al. 1988, Salt y Eaton, 1990, Nuñez et al. 1993).

La corteza somestésica primaria (SI) es el destino final de la información somestésica, sin contar con el procesamiento cortical que ocurre posteriormente entre áreas asociativas. Está situada en los primates en el giro postcentral y la componen las áreas 3a, 3b, 1 y 2 de Brodman. En la rata, se encuentra situada posterior y lateral al bregma, en continuación con la corteza motora (Chapin 1984). Las neuronas están localizadas representando el cuerpo y la cabeza del individuo y organizadas en columnas corticales con un CR común (Woolsey y Van der Loos 1970; Favorov y Diamond 1990; Mountcastle 1997). Las aferencias al área SI de la corteza en la rata parten principalmente de los núcleos ventral posteromedial, del grupo posterior y de los núcleos intralaminares (Jones 1985). Estos núcleos proyectan a las capas III-IV y a la capa VI de la corteza cerebral (Bernardo y Woolsey 1987; Chmielowska et al. 1989; Agmon et al. 1995; Land et al. 1995). El núcleo ventral medial del tálamo también proyecta a SI pero fundamentalmente a la capa I (Herkenham 1980; Groenewegen y Berendse 1994).

La información asciende desde el tálamo somatotópicamente ordenada. Cada área de Brodman de las que componen SI contiene un mapa representacional completo, sin embargo, el tipo de información que llega a cada una de las áreas es distinto (Mountcastle y Powell, 1959; Powell y Mountcastle 1959; Paul et al. 1972; Dreyer et al. 1975; Kaas et al. 1979; Merzenich et al. 1978; Rausell y Jones 1995). Al área 3a llega información propioceptiva de músculos y articulaciones, al área 3b llega la información táctil de la piel. El área 3b está íntimamente relacionada con el área 1 (ambas tienen información táctil), mientras que el área 3a se relaciona con el área 2 (ambas tienen información propioceptiva). Esto explica por qué una lesión selectiva del área 1 conlleva problemas para la discriminación táctil, mientras que una lesión del área 2 implica problemas para discriminación del tamaño y la forma. La mayoría de las aferencias desde el tálamo proyectan a las áreas 3a y 3b, luego a su vez la información llega a las áreas 1 y 2 mediante conexiones transcorticales.

Las eferencias de SI se dirigen a la corteza somestésica secundaria (SII) y a otras áreas corticales en donde se produce un procesamiento de la información somatosensorial más complejo (Jones y Powell 1969; Vogt y

Pandya 1977; Porter 1991). La corteza SII está localizada en los primates en el labio superior del surco lateral, posterior a SI (área 40 de Brodman). En la rata la disposición de SII es más simple ya que la rata es lisoencéfalo (presenta una corteza sin circunvoluciones). Las neuronas de SII están situadas lateralmente a SI (Chapin 1984). Está inervada por neuronas de SI las cuales son necesarias para el funcionamiento de SII. Por ejemplo, si se cortan las conexiones del área de la mano en SI, la estimulación de la piel de la mano no activa las neuronas de SII, sin embargo si se retira SII, las neuronas de SI siguen respondiendo a la estimulación periférica sin aparentes cambios. SII envía información a la corteza insular que a su vez conecta con áreas temporales que se piensa están relacionadas con la memoria táctil.

También existe una importante proyección desde las cortezas somestésicas a centros subcorticales generando una retroalimentación de las estaciones de relevo de la vía somestésica. La proyección corticotalámica procede de neuronas de capa VI que proyectan al núcleo ventral posteromedial (Jones y Wise 1977; Deschênes et al. 1998). Los axones corticotalámicos se distribuyen en el núcleo reticular y en el complejo posterior de una forma perfectamente organizada (Jones 1975; Jones et al. 1979). También existen fibras que llegan a los NCD y que parten de la capa V sobre todo de las áreas 3a y 3b, siendo menos numerosas las salidas desde las áreas 1 y 2 de Brodman (Walberg 1957; Martínez et al. 1995). Esta proyección corticodescendente es también muy importante desde la corteza motora (Canedo 1997; Canedo y Aguilar, 2000). Debido a que es uno de los puntos concretos de estudio de esta Tesis Doctoral, me referiré más concretamente en el apartado 8 de este capítulo.

7.- Campos receptivos en la vía somestésica

En las diferentes estaciones de relevo sináptico de la vía somestésica las neuronas responden al estimular un área determinada de la piel generando potenciales de acción. El área anatómica a la que responde esa neurona se llama CR. Cuando se estimula otra área anatómica las neuronas no responden o, incluso, su descarga puede ser inhibida por estos estímulos que ocurren fuera del CR, (Andersen et al., 1970). El tamaño y la forma de los distintos CRs es muy variable tanto en las diferentes neuronas como en las diferentes estaciones de relevo de la vía somestésica (Kaas, 1991, Weinberger 1995). Los CRs se solapan sin que quede ningún área anatómica sin cubrir, de manera que en cada una de las estaciones sinápticas hay todo

un mapa de representación de la anatomía del individuo. Lo mismo ocurre con otras vías sensoriales como el sistema auditivo o visual.

En la corteza SI los mapas representacionales son bidimensionales, organizados en columnas verticales funcionales (Woolsey y Van der Loos 1970, Favorov y Diamond 1990, Mountcastle 1997). En el tálamo son tridimensionales, organizados en laminillas (Mountcastle y Hennenman 1949; 1952; Dykes et al. 1981; Jones y Friedman 1982; Jones 1985). En los NCD los mapas son bidimensionales, organizados en capas curvadas en el espacio (Dykes 1983, Chapin 1984). Los CRs de las neuronas de proyección de los NCD son más grandes que los de las fibras de la columna dorsal (McComas 1963; Rustioni y Weinberg, 1989) y la mayoría recibe aferencias de distintas clases de receptores (Gordon y Jukes 1964), incluyendo aferencias dolorosas (Schwark y Ilyinsky, 2001).

Los CRs son plásticos: cambian de tamaño y de propiedades en distintas circunstancias como la desaferentización o la estimulación repetitiva de un CR (Kaas 1991; Weinberger 1995). La desaferentización tanto si es temporal, como la que se produce la inyección de lidocaína, o crónica, mediante amputaciones, produce un cambio inmediato en los CRs de la neuronas de los NCD, con una expansión de los mismos demostrando que neuronas de los NCD reciben entradas sinápticas de un CR más amplio de lo que demuestran al disparar potenciales de acción. Posiblemente mediante inhibición en los NCD se restringe la respuesta neuronal a un CR más pequeño (Dostrovsky y cols. 1976; Millar y cols. 1976; Pettit y Schwark, 1993; Panetsos y cols., 1995, 1997). Cambios similares en los CRs también se producen en las neuronas talámicas y corticales (Nicoletis y cols., 1993; Rasmusson y cols., 1993; Rasmusson, 1996; Kalasca y Pomeranz, 1979; Hicks y Dykes, 1983; Merzenich y cols. 1983**b**; Rasmusson y Turnbull, 1983; Merzenich y cols. 1984; Caldford y Tweedale, 1991). En todas las estructuras la aparición de estos CRs nuevos puede ser debido a una disminución de la actividad de las neuronas inhibitorias (Hicks y cols, 1986; Panetsos y cols., 1997), como sugiere la expansión de los CRs corticales por la aplicación del antagonista de receptores $GABA_A$, bicuculina, en la corteza cerebral (Hicks y cols., 1986). Por tanto, la modulación de la actividad inhibitoria en las diferentes estaciones de relevo de la vía somestésica contribuye a la plasticidad de los CRs que no solo se produce por la desaferentización periférica sino también por la estimulación repetitiva (Kaas 1991; Weinberger 1995).

En la clínica también se pueden ver los cambios en los CRs por cambios en la entrada sensorial. Quizá el ejemplo más claro es el de las amputaciones. Cuando se amputa una parte de un miembro a menudo el paciente tiene la sensación de que se está tocando la parte distal del miembro amputado, al tocar la piel del muñón o incluso partes más alejadas como al tocar la cara en un amputado del miembro superior (Ramachandran y cols., 1992; Aglioti y cols. 1994).

8.- Proyección de la corteza a los NCD

Numerosos estudios anatómicos han descrito la existencia de una conexión monosináptica descendente desde la corteza SI hasta los NCD (Chambers y Liu 1957; Walberg 1957; Rustioni y Hayes 1981; Martínez y cols. 1995). Estas fibras corticofugales proceden de neuronas de la capa V de SI y en menor cantidad desde SII y la corteza motora (Jabbur y Towe 1961; Valverde 1966; Weisberg y Rustioni 1976; Rustioni y Hayes 1981, Chema et al. 1983; Martínez-Lorenzana et al. 2001).

Las fibras descendentes van por la vía piramidal y llegan a los NCD contralaterales tras la decusación de las pirámides (Valverde 1966; Mc Comas y Wilson 1968). Las proyecciones corticofugales hacen sinapsis tanto con neuronas de proyección como con interneuronas (Canedo y cols. 1998; Aguilar et al. 2003). Las fibras corticales que llegan a los NCD son exclusivamente glutamatérgicas (Rustioni y Cuénod, 1982; Conti y cols., 1989; DeBiasi y cols., 1994) y emplean tanto receptores glutamatérgicos del tipo AMPA/kainato como NMDA para modular la actividad de los NCD (Núñez y Buño 2001).

Se ha encontrado una importante relación entre la información que procesa la zona de SI de donde parte la proyección subcortical y la que procesa la zona de los NCD donde llega esta proyección. Así, a la región más ventral del núcleo cuneatus, que recibe información periférica fundamentalmente propioceptiva, llegan proyecciones desde las áreas 4 y 3a, mientras que a la región más dorsal del cuneatus, que recibe sobre todo información táctil, llegan proyecciones desde el área 3b (Kuypers et al., 1964; Cheema et al., 1983). La proyección desde las áreas 4 y 3a es más abundante en gatos que en primates (Bentivoglio et al., 1986). Esta diferencia entre el gato y los primates podría deberse a que el primate realiza muchos más movimientos en relación con la información táctil (manipulación) mientras que el felino modula sus movimientos más en relación con información propioceptiva (Mariño et al. 1999).

En cuanto a la función de esta abundante conexión de la corteza sobre los NCD, no se conoce bien. Parece lógico pensar que esta es una vía de retroalimentación y, por tanto, debe tener un papel modulador sobre las aferencias sensitivas (Canedo y Aguilar 2000). Varios estudios electrofisiológicos han ido perfilando el papel de la corteza sobre los NCD. En 1958 Dawson encontró que en el núcleo cuneatus los estímulos del nervio periférico producían potenciales de acción pero la respuesta disminuía si previamente estimulaba la corteza contralateral. Posteriormente Magni y cols. (1959) mostraron cómo esta inhibición estaba mediada por actividad descendente del sistema piramidal. Towe y Zimmerman (1962) describieron que la estimulación cutánea producía en los NCD una doble descarga, la primera debida al estímulo aferente ascendente y la segunda debida a la retroalimentación desde la corteza. Teniendo en cuenta que la vía piramidal es excitatoria, Gordon y Jukes (1964) postularon que debía haber interneuronas inhibitorias en los NCD que mediaran la inhibición cortical. A pesar de todos estos trabajos, la funcionalidad de esta vía de retroalimentación no era clara ya que, al estimular la corteza SI, la mayor parte de las veces se obtenía una inhibición sobre la actividad de las neuronas de los NCD, sin embargo, en otras ocasiones se conseguía un aumento de la respuesta a los estímulos periféricos (Jabbur y Towe 1961; Towe y Jabbur 1961; Andersen y cols. 1964; Gordon y Jukes 1964; Levitt y cols. 1964; Chema et al. 1983; Cole y Gordon 1992). Mediante registros intracelulares se demostró que estas excitaciones e inhibiciones se deben a la generación de EPSPs e IPSPs por estimulación cortical (Canedo y Aguilar 2000; Mariño et al. 2000).

Los estudios realizados parecen indicar que la corteza somestésica tiene un efecto modulador de las respuestas somatosensoriales, fundamentalmente inhibitorio sobre los NCD, pero en ocasiones puede activar. En 1992 Cole y Gordon describieron que el umbral para modificar la actividad en los NCD mediante la estimulación cortical variaba según se modificara la posición del electrodo de estimulación en el mapa de representación cortical, por lo que podría pensarse que dependiendo del sitio de estimulación cortical, los efectos sobre los NCD pueden ser diferentes.

En otras vías sensitivas la corteza realiza acciones similares sobre las neuronas situadas en núcleos subcorticales. En el murciélago está bien descrito cómo la corteza auditiva juega un papel decisivo en la modulación de las aferencias auditivas (Villa et al., 1991; Diamond et al., 1992; Yan y Suga, 1996; Ma y Suga 2001; Yan y Ehret 2002). El origen de las

proyecciones corticales, SI y corteza motora, está claramente concentrado en las áreas relacionadas con el movimiento. Se ha podido observar que las respuestas somatosensoriales están modificadas antes y durante el movimiento voluntario en el gato (Ghez y Pisa 1972; Coulter 1974; Weisberg y Rustioni 1979), todo ello sugiere de nuevo un papel modulador de la corteza sobre la información que se procesa en los NCD.

9.- Nocicepción

El dolor es una sensación compleja interpretada como negativa por el individuo que le advierte de un estímulo nocivo para su integridad. La Organización Internacional para el estudio del Dolor (IASP) define esta sensación como "una experiencia sensorial y emocional desagradable, asociada a un daño tisular real o potencial".

Las sensaciones dolorosas son recogidas por los nociceptores y procesadas en la médula espinal y a lo largo de la vía somestésica. Los nociceptores son terminaciones nerviosas libres, sin especializaciones morfológicas, procedentes de axones muy poco mielinizados o amielínicos (fibras A δ y C) (Rethelyi et al. 1982; Sugiura et al. 1986, 1993). Los hay mecánicos que responden a estímulos de alta intensidad, térmicos que responden a temperaturas potencialmente nocivas (más de 45°C ó menos de 18°C), termomecánicos que responden a ambos tipos de estímulos y polimodales (Wolf y Fitzgerald 1983; Andrew y Craig 2001, 2002). Todos ellos tienen un umbral de respuesta muy alto, todos tienen actividad durante un tiempo después de que desaparezca el estímulo (postdescarga) y, a diferencia de otros tipos de receptores, su estimulación repetida induce una disminución del umbral de respuesta, o sensibilización. Este fenómeno se produce también por la liberación en el tejido dañado de sustancias sensibilizadoras, propias de la respuesta inflamatoria (Schwark y Ilyinsky 2001).

La mayoría de las fibras nociceptivas sinaptan en las láminas I (capa marginal) y II (sustancia gelatinosa) (Bowsher y Andel-Maguid 1984, Wolf y Fitzgerald 1983, Seagrove et al. 2004). Muchas de las neuronas de la lámina I responden sólo a estímulos dolorosos, sin embargo otras neuronas de esta capa llamadas neuronas dinámicas de amplio rango, responden a estímulos dolorosos y táctiles. La sustancia gelatinosa (lámina II) está compuesta prácticamente sólo por interneuronas excitatorias e inhibitorias, algunas responden sólo a estímulos dolorosos y otras lo hacen también a estímulos táctiles. La mayoría de las neuronas de la lámina V son dinámicas de amplio rango y proyectan hacia el tronco del encéfalo y el tálamo a través del

sistema anterolateral. Estas neuronas reciben estímulos monosinápticos de fibras tipo A β y A δ . Además reciben estímulos de fibras tipo C, bien directamente gracias a la expansión superficial de sus dendritas, o bien a través de interneuronas excitatorias de la lámina II que, a su vez, han recibido la estimulación de fibras tipo C. Muchas neuronas de la lámina V reciben también estímulos nociceptivos originados en las vísceras. Desde la médula asciende la información dolorosa a través del sistema anterolateral (Andrew y Craig 2002; Craig y Andrew 2002).

El tálamo recibe la información nociceptiva en dos áreas bien diferenciadas:

a.- El grupo lateral, compuesto por los núcleos medial ventralposterior, lateral ventralposterior y el núcleo posterior. Reciben la información del tracto espinotalámico y procesan información sobre la localización del dolor, sobre todo del dolor agudo. La lesión de estos núcleos o del haz espinotalámico lleva en clínica al síndrome talámico o de Dejerine-Roussy que implica dolor o disestesias en el hemicuerpo contralateral (Dejerine y Roussy, 1906). Por ser posterior en la evolución se le llama sistema neoespinotalámico.

b.- El grupo medial, compuesto por el núcleo central lateral y el complejo intralaminar. Las aferencias son polisinápticas desde la formación reticular, a través de lo que algunos llaman el haz espinoreticulotalámico. Procesan un dolor menos definido, menos localizado y menos agudo. Estos núcleos, además de procesar información dolorosa, proyectan a numerosas áreas corticales y a los ganglios basales. Por su aparición anterior en la evolución se le llama sistema paleoespinotalámico.

La corteza cerebral es donde el dolor se hace consciente y donde se percibe como una experiencia negativa. En SI hay neuronas que responden a estímulos nociceptivos y también en la corteza cingular y en la ínsula (Craig et al., 1994, 1996; Bingel et al. 2003; Inui et al. 2003). Las lesiones en la ínsula pueden producir asimbolia dolorosa, estos pacientes notan dolor, incluso pueden distinguir entre varios tipos de dolor pero para ellos esta no es una experiencia negativa. El papel que la corteza puede tener en la génesis del dolor o en algunos estados patológicos del dolor es objeto de estudio en una parte de este trabajo y serán analizados más adelante.

El dolor como patología

La nocicepción es una percepción importante para el funcionamiento adecuado de nuestro organismo. En condiciones normales nos informa de que

se ha producido un daño en una zona de nuestro cuerpo, y ya he comentado anteriormente los menoscabos que aparecen en aquellas patologías donde desaparece la capacidad para sentir dolor. Sin embargo, el dolor puede aparecer sin causa justificada convirtiéndose en una patología *per se* que, en algunos casos, conduce incluso al suicidio.

La hiperalgesia es una situación en la que, tras recibir un estímulo doloroso de una cierta intensidad, el paciente lo percibe como de mucha más intensidad. La alodinia es la sensación de dolor desencadenada por un estímulo no doloroso (Baumann et al. 1991; Cerveró 1996). Ambas circunstancias pueden aparecer sin que haya ningún elemento patológico acompañante, pero es muy frecuente que aparezcan en áreas no lesionadas adyacentes a una lesión. También ocurren en la distrofia simpático-refleja y en la causalgia, síndromes recientemente rebautizados como síndrome de dolor regional complejo tipo I y tipo II respectivamente. En estos síndromes el dolor es el síntoma cardinal sin que, hasta la fecha, se conozcan las causas y tanto la hiperalgesia como la alodinia están presentes. Los trastornos del dolor sin lesión son especialmente refractarios a los tratamientos analgésicos convencionales y conllevan un importante menoscabo en la salud de los que los padecen (Harrison et al. 2005).

El tacto y el dolor

La relación entre ambos sistemas de percepción está bien descrita. En los años sesenta se formuló la "teoría del control de la puerta de entrada" (Melzack y Wall, 1965). Diversos estudios han ido demostrando cómo la nocicepción disminuye en intensidad si se realiza una estimulación somestésica no dolorosa en el área dañada. Una estimulación táctil superficial o vibratoria en un área donde se ha aplicado un estímulo doloroso hace disminuir el dolor. Este principio es el que podría explicar el mecanismo de acción de la estimulación eléctrica transcutánea (TENS) que se utiliza en la clínica para paliar dolores crónicos. El sustrato anatomofisiológico de esta teoría de la puerta de entrada se situó, desde su formulación, en la médula y esto se basa en varias observaciones clave: primero allí convergen en las mismas áreas anatómicas fibras amielínicas tipo C y mielínicas tipo A δ , que transportan nocicepción, con fibras mielínicas tipo A β , que transportan información somestésica no dolorosa (en lámina V). Segundo, la estimulación de las fibras gruesas A β produce inhibición de las neuronas de proyección de la lámina V, a través de la activación de interneuronas inhibitorias localizadas en la lámina II. Y por último la estimulación de las fibras C y A δ

activa las neuronas de proyección de la lámina V e inhibe las interneuronas de la lámina II (Ej. Bolanowski et al. 2000). En resumen, las aferencias nociceptivas "abren" y las somestésicas no dolorosas "cierran" la puerta de entrada a los estímulos dolorosos (Melzack y Wall, 1965).

Parece clara la relación entre ambos sistemas somestésicos en la médula. Sin embargo tacto, propiocepción y dolor convergen también en otras localizaciones anatómicas donde podrían interactuar. Los NCD dorsal reciben los tres tipos de información somestésica, también el tálamo, la corteza y varias estructuras del tronco como veremos más adelante. Estas interacciones encefálicas de los sistemas somestésicos no están bien estudiadas.

Los NCD responden a estímulos dolorosos tanto cutáneos como viscerales (Cliffer et al, 1992; Al-Chaer et al., 1997; Ferrington et al. 1998; Rong et al. 2004) además, la concentración de neuropéptidos relacionados con la transmisión nociceptiva en los NCD está aumentada tras la compresión o transección del nervio ciático (Miki et al. 1998a,b; Schwark et al. 1998). La morfina intraespinal no disminuye los fenómenos de alodinia, sin embargo se muestra potente si se administra vía sistémica o intraventricular (Bian et al., 1995; Lee et al., 1995). Las lesiones de la columna dorsal hacen desaparecer la alodinia sin alterar otros comportamientos sugestivos de sensaciones dolorosas (Bian et al., 1998; Houghton et al., 1999), por tanto mientras que estímulo doloroso asciende por la vía anterior, la aparición de alodinia requiere el concurso de la vía de los cordones posteriores.

La inyección de formalina en la piel produce una respuesta dolorosa bifásica (Dubuisson y Dennis, 1977; Hunskar et al., 1985; Abott et. al, 1995). La formalina además produce alodinia, con aumento claro de las respuestas en el test de formalina. El estudio electrofisiológico en los NCD de la relación entre el estímulo doloroso generado por la inyección subcutánea de formalina y la respuesta a estímulos táctiles ha mostrado que hay una disminución de la respuesta táctil en la zona donde se ha inyectado formalina (hipoestesia) con un aumento de la respuesta de las neuronas de los NCD a la estimulación táctil en las zonas adyacentes a la inyección (Costa-García y Núñez, 2004). Este efecto de hipoestesia en la zona con estimulación dolorosa e hiperestesia en las zonas adyacentes podría contribuir a la expresión de la alodinia. Estos fenómenos de cambio en los CRs tras la administración de formalina no se observan en las fibras del cordón posterior y por tanto deben generarse en áreas supraespinales siendo los NCD la primera estación de relevo de la vía somestésica en donde

se puede observar (Costa-García y Núñez, 2004). Todo ello hace pensar que hay mecanismos supraespinales, en los que participan los NCD, fundamentales en la génesis del dolor.

HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

La corteza somestésica primaria envía una aferencia muy abundante y directa sobre los núcleos de la columna dorsal, primera estación de relevo de la información somestésica. Su funcionalidad no se conoce bien ya que se ha descrito que esta proyección puede facilitar, inhibir, o ambas cosas simultáneamente, las respuestas a estímulos táctiles. Si se pudiese determinar un patrón por el cual la corteza somestésica facilite determinadas respuestas sinápticas en los núcleos de la columna dorsal e inhibiese otras respuestas, la proyección corticofugal tendría una función fundamental en el procesamiento de la información somatosensorial.

Aunque la proyección corticofugal hacia los núcleos de la columna dorsal se conoce desde hace muchos años, y también se conocen sus efectos fisiológicos de facilitación e inhibición, no se han podido determinar los neurotransmisores y los receptores implicados en estos efectos descritos anteriormente. La proyección corticofugal debe ser glutamatérgica, por tanto, los efectos inhibitorios deben ser generados por la actividad de neuronas inhibitorias en los núcleos de la columna dorsal. Estos neurotransmisores podrían ejercer efectos a corto o largo plazo sobre las respuestas sinápticas de estas neuronas.

Por otro lado, los núcleos de la columna dorsal son centros importantes de recepción de estímulos dolorosos tanto somáticos como viscerales, pero poco se sabe de su papel en el procesamiento de la información dolorosa. La interacción entre los sistemas táctil y algésico se ha descrito de forma muy prolija en segmentos espinales, pero poco se sabe de las interacciones de ambos en los niveles supraespinales. Los núcleos de la columna dorsal como centros de convergencia fundamentales de estos dos sistemas podrían jugar un papel protagonista en las interacciones del tacto y el dolor.

Basado en estos datos, la hipótesis de esta Tesis Doctoral es que la corteza somestésica primaria puede controlar la entrada de la información somestésica actuando de forma precisa sobre las respuestas sensoriales de las neuronas de los núcleos de la columna dorsal. Este control lo ejercería facilitando la transmisión de determinados estímulos e inhibiendo otros, simultáneamente. Su acción también podría contribuir a la plasticidad de los CRs que ocurre durante los cambios en la entrada periférica sensorial.

Por tanto, se proponen los siguientes objetivos específicos:

- 1) Determinar las circunstancias en las que la corteza somestésica primaria ejerce un papel facilitador o inhibidor de las respuestas táctiles de las neuronas de los núcleos de la columna dorsal.
- 2) Establecer si la acción de la corteza somestésica primaria puede modificar el tamaño del CR de las neuronas de los núcleos de la columna dorsal.
- 3) Estudiar el curso temporal de los procesos de modulación corticofugal sobre las neuronas de los núcleos de la columna dorsal.
- 4) Determinar si la modulación corticofugal sobre las neuronas de los núcleos de la columna dorsal pueden revertirse, confiriéndole al sistema un mecanismo de plasticidad sináptica.
- 5) Establecer los neurotransmisores implicados en esta modulación corticofugal.
- 6) Estudiar si las respuestas a estímulos dolorosos de las neuronas de los núcleos de la columna dorsal son modificadas por la entrada corticofugal de la misma forma que las respuestas a estímulos táctiles.

Estos objetivos pretenden determinar la participación de la proyección corticofugal en el procesamiento de la información somatosensorial y en la plasticidad de las respuestas táctiles de las neuronas de los núcleos de la columna dorsal. Estos procesos podrían determinar la existencia de procesos atencionales en la primera estación de relevo de la vía somestésica.

MATERIAL Y MÉTODOS

1.- Animales de experimentación

Los datos fueron obtenidos de un total de 91 ratas Wistar de Iffa-Credo (Francia), criadas en el animalario de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid. Las ratas fueron de ambos sexos y sus pesos estuvieron comprendidos entre 200 y 230 g. Todos los animales fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de uretano a una dosis de 1,6 g/Kg.

Tras la anestesia se colocaron en un aparato estereotáxico, y se les ventiló artificialmente durante todo el experimento mediante una bomba de Harvard Instruments a 22 ciclos por minuto. También se monitorizó el porcentaje de dióxido de carbono (CO_2) en el aire espirado, manteniéndose entre 2-4%. Para completar la anestesia general, se inyectó en todos los puntos de incisión un anestésico local (lidocaína al 1%). Para monitorizar el nivel de anestesia se observó el reflejo pupilar y se registró el electroencefalograma (EEG) mediante la inserción de un macroelectrodo (de acero inoxidable aislado 120 μm de diámetro, cortado de forma roma y en donde desaparecía el aislante). Este electrodo fue colocado en la corteza cerebral del lóbulo frontal y se colocó un electrodo de referencia en la musculatura del animal. El EEG se registró de forma continua en un osciloscopio analógico. El nivel de anestesia se estimó por la amplitud de las ondas lentas del EEG y se administraron dosis suplementarias de anestésico para mantener al animal arrefléxico o cuando la amplitud de las ondas lentas del EEG decrecía. La temperatura del animal se mantuvo a 37°C con ayuda de una manta térmica.

Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con la normativa de la Unión Europea (European Communities Council Directive, 86/609/EEC) y se trató de minimizar el sufrimiento y el número de animales de experimentación en lo posible.

2.- Preparaciones quirúrgicas

Para el registro en los NCD se realizó una incisión en la piel a nivel de la línea media desde el occipucio hasta los segmentos cervicales inferiores. Tras desinsertar la musculatura de la nuca sobre el occipucio y sobre la membrana occipito-atloidea, se extirpó dicha membrana junto con la duramadre y la leptomeninge adherida a la misma para dejar abierta la cisterna magna y el tronco del encéfalo al descubierto. Los NCD se

localizaron por visualización directa bajo el microscopio de disección, utilizando como referencia el obex. Se añadió aceite mineral para evitar la desecación de las estructuras nerviosas.

Aunque los NCD fueron identificados visualmente, las referencias estereotáxicas donde están situados fueron las siguientes:

Antero-Posterior, -13,6 a -14,6 mm; lateral 0,2 a 1,0 mm, utilizando el bregma como referencia; H, 0,0 a 0,5 mm desde la superficie del tronco del encéfalo (Atlas de Paxinos y Watson, 1986).

El resto de estructuras registradas o estimuladas fueron localizadas por métodos estereotáxicos según las coordenadas del atlas de Paxinos y Watson (1986). Para el registro y estimulación de la corteza somestésica primaria (SI) se realizó una craniotomía desde el bregma hasta 4 mm posterior a este punto y desde 2 a 6 mm lateralmente. Se retiró la duramadre y se cubrió la corteza cerebral con aceite mineral.

3.- Registros en los NCD

Para los registros de la actividad unitaria de los NCD se utilizaron micropipetas de vidrio o microelectrodos de tungsteno (World Precision Instruments, Reino Unido). Las micropipetas se realizaron en un estirador de pipetas (Narishigui, Japón) y se rellenaron con NaCl 3M para conectarse a través de un hilo de plata a un preamplificador. La punta de la pipeta fue seccionada hasta un diámetro de 2 a 6 μm , con lo que se conseguían que la impedancia del electrodo fuera de 2-5 $\text{M}\Omega$. Los microelectrodos de tungsteno tenían también una impedancia de 2-5 $\text{M}\Omega$. Los registros de actividad neuronal unitaria fueron filtrados (0,3-3 kHz) y amplificados mediante un preamplificador de corriente alterna P15 (Grass, West Warwick, USA) y almacenados en un ordenador Macintosh mediante un programa de adquisición y análisis de señales electrofisiológicas, Spike 2 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, Reino Unido).

Todos los datos (actividad neuronal y pulsos de sincronismo de la estimulación antidrómica o de la estimulación de los CRs), se adquirieron en el ordenador mediante la digitalización de las señales a una frecuencia de muestreo de 10 KHz para el registro neuronal y de 1 KHz para los pulsos de sincronismo. Para la digitalización de las señales se utilizó una tarjeta de digitalización 1401 plus de Cambridge Electronic Design (Ver apartado 10, Análisis de los datos).

La forma y amplitud de la espiga fueron monitorizadas continuamente en un osciloscopio analógico. Durante el análisis en el ordenador se realizaron nuevos controles de amplitud y forma de la espiga, para asegurar que se registraba la misma célula durante todo el experimento.

4.- Estimulación somestésica

Cuando se conseguía aislar en el registro una neurona, su CR sensorial era delimitado minuciosamente con un pincel para determinar su extensión. Los CRs se perfilaban según los límites en los que el estímulo inducía cambios en la actividad basal de la neurona. El centro funcional del CR quedaba definido por la superficie cutánea cuyo estímulo provocaba la respuesta más intensa. La estimulación cutánea se realizó de forma precisa bien mediante un chorro de aire controlado por una válvula electrónica (1-2 kg/cm²; Picospritzer, General Valve), lanzado a través de un tubo de polietileno con un diámetro interior de 1 mm, o bien mediante una sonda de plástico (0.5 mm de diámetro) movida por un solenoide que era alimentado por pulsos de corriente continua de 2-4 V que permitían controlar la duración e intensidad de la indentación que producía en la piel el tubo de polietileno. La duración de los estímulos variaba según los experimentos. Los pulsos de corriente que controlaban el solenoide fueron generados con un estimulador S88 (Grass).

Con el fin de evaluar distintos procesos inhibitorios que ocurrieran en los NCD se aplicó un protocolo de estímulos condicionante-test (estimulación en pares de pulsos), separados a intervalos de tiempo diferentes. En este caso se realizaron siempre estímulos mediante la sonda de plástico controlada por el solenoide y se daban dos estímulos iguales en intensidad (estímulo condicionante y estímulo test) en el mismo sitio y a 3 intervalos de tiempo diferentes (30, 50 y 100 ms).

5.- Estimulación cortical

Para estimular la corteza SI se utilizaron electrodos bipolares (120 μ m de diámetro de acero inoxidable, World Precision Instruments) que estaban aislados excepto en las puntas. Se aplicaron estímulos individuales de 0.3 ms de duración, 10-100 μ A de intensidad y a una frecuencia de 0.5 Hz. También se aplicaron trenes de estímulos a 50 ó 100 Hz de frecuencia, durante 500 ms de duración. Estos estímulos fueron aplicados mediante un estimulador

Grass S88 que permite aplicar pulsos de corriente de intensidad, duración y frecuencias conocidas y a través de una unidad de aislamiento (Stimulus Isolation Unit, Grass SIU5) para disminuir el artefacto de la estimulación en el registro neuronal.

Antes de colocar el electrodo de estimulación se delimitaba el CR del área cortical donde iba a ser introducido para poder estimular áreas corticales con el mismo o con diferente CR que la neurona registrada en los NCD. Para ello se introducía un microelectrodo de tungsteno para registro multiunitario (1-2 M Ω) en las coordenadas estereotáxicas correspondientes a la corteza SI (A: +1 a -3; L: 2 a 5; H 1.2 mm) y se buscaba un área cutánea de la extremidad inferior que provocara una respuesta multiunitaria vigorosa. Tras perfilar el CR, se colocaba el electrodo de estimulación en la corteza SI (a una profundidad de 1,2 mm) contralateral a la neurona registrada en los NCD.

6.-Estimulación del lemnisco medio.

Para identificar las neuronas de proyección de los NCD al tálamo se estimuló eléctricamente el lemnisco medio. Para ello se introdujeron electrodos de estimulación bipolares en el lemnisco medio después de realizar un trépano en la calota (A 6,5; L 0,5-1,5; H 8-9 mm). El disparo antidrómico fue evocado mediante pulsos de corriente de corta duración (0,1-0,3 ms) a intensidades bajas de (10-100 μ A). Estos estímulos se aplicaron individualmente a una frecuencia de 0.5 Hz o en trenes a frecuencias entre 100 y 300 Hz.

7.- Aplicación de antagonistas de neurotransmisores

Los fármacos antagonistas de los neurotransmisores que podrían estar implicados en la actividad de las neuronas de los NCD se aplicaron por iontoforesis. Para la aplicación por iontoforesis se utilizaron pipetas en barril con 3 compartimentos diferentes que servían para la aplicación de fármacos y para el registro unitario de forma simultánea. Un compartimiento se rellenaba con NaCl 3M y se utilizaba para el registro extracelular, un segundo compartimiento se rellenaba con uno de los siguientes agentes: Ácido D-2-amino-5-fosfomonoaléico (APV; 50 mM; pH 8), antagonista de los receptores de glutamato tipo NMDA; 6-etano-7-nitroquinoxalin-2,3-diona (CNQX; 1 mM; pH8), antagonista de los

receptores de glutamato tipo AMPA (Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-isoxazol-4-propiónico); o bicuculina (20 mM; pH 4), antagonista de los receptores de $GABA_A$. El compartimiento restante se rellenaba con NaCl 3M para el equilibrado automático de las corrientes de inyección. Los fármacos eran aplicados con corrientes negativas (para APV y CNQX) o positivas (para bicuculina), utilizando un pulso único de 10-30 s de duración y hasta 200 nA de intensidad. Se utilizaban corrientes de 10-20 nA de intensidad para retener el fármaco en el compartimiento de la pipeta en barril antes de su inyección.

8.- Estimulación dolorosa

Para estudiar el efecto de la estimulación dolorosa sobre las neuronas de los NCD y su modulación por las proyecciones corticofugales se utilizó un modelo que consistía en la inyección subcutánea de formalina, el cual se utiliza para generar dolor durante un periodo de tiempo prolongado. La formalina se obtuvo tras diluir formaldehído en agua destilada hasta una concentración final de 5%. Con una jeringa Hamilton se inyectaban en cada experimento 7 μ l de formalina en la zona subcutánea del CR. La respuesta a la estimulación cutánea tras dicha inyección se registraba a los 2 minutos desde la inyección de la misma.

9.- Decorticación

Para provocar una decorticación del área cortical SI y estudiar su efecto sobre la actividad de las neuronas de los NCD, se inyectó lidocaína (2%) sobre este área cortical. Para ello tras realizar una ventana ósea sobre la corteza cerebral contralateral al NCD estudiado, se retiraba la duramadre y se inyectaban 5 μ l de lidocaína al 2% mediante una jeringa Hamilton, cubriendo completamente toda la superficie de la corteza SI y áreas corticales adyacentes. La lidocaína es un anestésico local que bloquea las corrientes de Na^+ y, por tanto, la actividad neuronal.

10.- Análisis de los datos

Los registros unitarios aceptados para el análisis fueron aquellos cuya amplitud de la espiga varió menos del 10% durante todo el experimento y su relación con el ruido del registro fue de al menos dos veces mayor que éste. Los registros electrofisiológicos fueron adquiridos en un ordenador Macintosh para su análisis estadístico.

El término "adquisición" designa una serie de pasos por los cuales las señales son digitalizadas, es decir, el valor de voltaje de la señal en un momento dado es almacenado en el ordenador como un valor numérico, repitiéndose esta operación a una frecuencia fija que denominamos "frecuencia de muestreo". Cuanto más alta es la frecuencia de muestreo mayor es la exactitud de la señal reproducida dentro del ordenador ya que el intervalo entre las muestras es menor. Para la elección de la frecuencia muestreo hay que tener en cuenta el criterio de Nyquist, que establece que la frecuencia de muestreo debe ser al menos el doble de la frecuencia más alta contenida en la señal. En este estudio se eligió como frecuencia de muestreo 10 KHz para los registros unitarios. También se almacenaron en el ordenador junto con las señales de la actividad neuronal, las señales de sincronismo correspondientes a la ocurrencia de los estímulos táctiles o a los estímulos eléctricos en la corteza SI o en el lemnisco medio. Estas últimas señales se utilizaron como referencias temporales en los histogramas periéstímulo.

Los registros de la actividad neuronal se transformaron en procesos discretos sustituyendo las espigas por elementos puntuales tomando como referencia el momento de la generación de la espiga. Esta variable se almacenó en el ordenador como señales cuyo valor sólo pudo ser 1 o 0 según si hubiera acontecido el suceso o no, respectivamente. La obtención de este proceso puntual se hizo mediante el uso de un umbral de voltaje que discriminó la ocurrencia de un potencial de acción en la neurona estudiada y lo convirtió en un proceso puntual.

Para el análisis de los resultados se calcularon los histogramas periéstímulo y los histogramas de autocorrelación mediante el mismo software Spike 2 (Cambridge Electronic Design), utilizando "bins" de 2 ms de duración.

Para el análisis estadístico de las respuestas a estímulos táctiles o de la corteza SI se calculó el histograma periéstímulo el cual se calcula con los intervalos entre el estímulo y la aparición de los potenciales de acción. Se consideró que había respuesta cuando el área del histograma 50 ms tras el

estímulo era al menos 2 veces mayor que el área del histograma 50 ms antes del estímulo. La latencia de las respuestas se midió como el tiempo entre el estímulo y el pico mayor en el histograma.

Para cuantificar la inhibición que puede ocurrir en la actividad de los NCD se utilizaron pares de estímulos táctiles de 20 ms de duración a diferentes intervalos (estímulo condicionante-estímulo test). A intervalos cortos el estímulo test era menor debido a la existencia de un circuito inhibitorio. Para medir la disminución de la respuesta se calculó el cociente entre el número de potenciales de acción provocadas por cada estímulo test dividida por el número de potenciales de acción provocados por el estímulo condicionante previo.

Para determinar la presencia de actividad rítmica en la descarga de las neuronas de los NCD se calcularon los histogramas de autocorrelación. Estos histogramas se obtienen de los intervalos entre un potencial de acción de referencia y los potenciales de acción que ocurren en un intervalo de tiempo determinado. El histograma de autocorrelación es plano cuando la actividad neuronal es arrítmica, por tanto, la probabilidad de aparición de un potencial de acción después del de referencia es igual a todos los intervalos. En cambio, el histograma de autocorrelación presentó picos y valles cuando la actividad de la neurona era rítmica. Los picos y valles indican la presencia de intervalos de tiempo en los que la probabilidad de la descarga de potenciales de acción fue mayor. El intervalo de tiempo entre dos picos del histograma es el periodo de la oscilación y la frecuencia de la oscilación se calculó como la inversa del periodo.

Los datos fueron comparados utilizando el test t de Student o el test de Wilcoxon para datos apareados, según el protocolo del experimento. Los datos se muestran como valores medios \pm el error Standard.

RESULTADOS

Se seleccionaron 243 neuronas del núcleo gracil para su análisis electrofisiológico, las cuales mostraban una respuesta a la estimulación táctil en la pata trasera de la rata. También se realizaron algunos registros en las neuronas del núcleo cuneatus (n= 12) en donde se observaron los mismos resultados que se exponen a continuación. En este caso, las neuronas presentaron un CR situado en las patas delanteras. Los resultados que se presentan a continuación se refieren a los obtenidos en las neuronas del núcleo gracil.

1.- Poblaciones neuronales y respuestas somatosensoriales

Los registros extracelulares mostraron la presencia de dos tipos de neuronas en condiciones de actividad espontánea: neuronas con baja frecuencia espontánea de descarga (<5 Hz) denominadas células tipo I (n= 140; 75%) y neuronas con alta frecuencia de descarga (>10 Hz) o células tipo II (n= 49; 25%). Estas neuronas presentaron las mismas características de descarga que las neuronas descritas previamente en la literatura (Panetsos et al., 1997, 1998; Núñez et al., 2000).

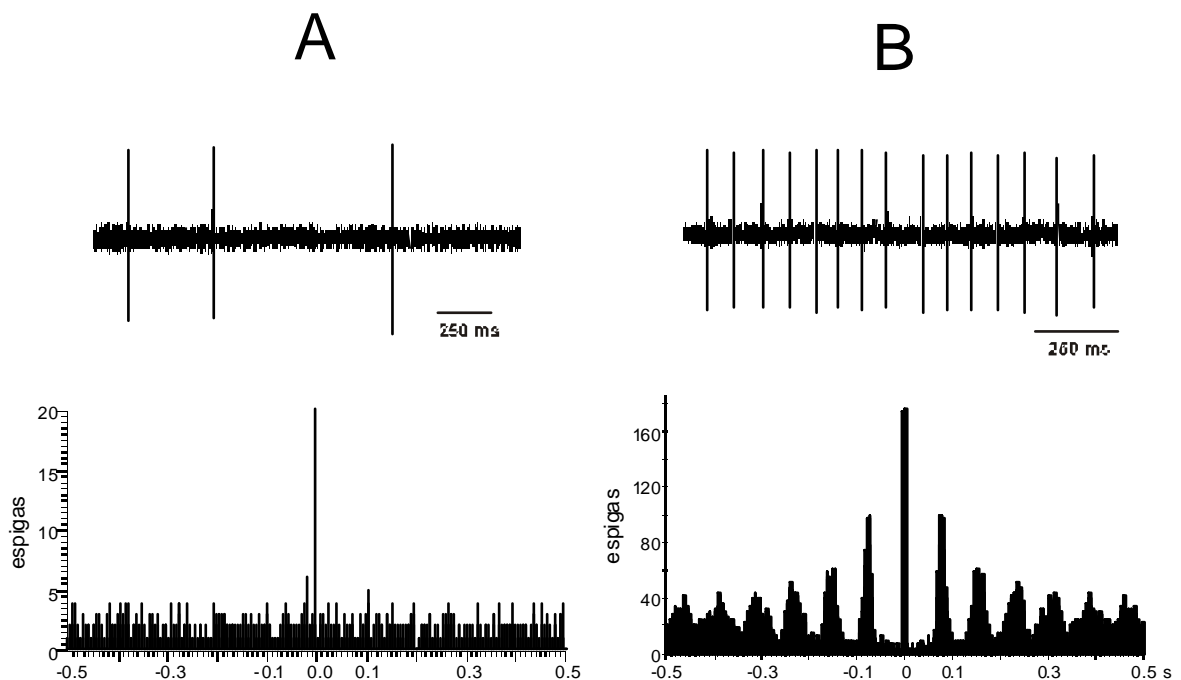


Figura 1.- Tipos celulares en el núcleo gracil. Ejemplos representativos de la actividad espontánea de una neurona tipo I (A) y de una tipo II (B). Arriba registros extracelulares y abajo histogramas de autocorrelación de ambos tipos neuronales. Véase la ritmicidad y la mayor frecuencia de descarga de la neurona tipo II.

Las neuronas tipo I tenían una frecuencia media de descarga de $2,1 \pm 0,28$ Hz (rango 0-6,8 Hz) y disparaban potenciales de acción espontáneamente o durante la estimulación sensorial de su CR con una duración media de $0,48 \pm 0,019$ ms, medida en su componente negativo. Estas neuronas disparaban potenciales de acción únicos o en la mayoría de los casos brotes de potenciales de acción (Figura 1A). En condiciones espontáneas las neuronas tipo I tuvieron una forma de descarga arrítmica en todos los casos, como se observa en el histograma de autocorrelación que fue en todos los casos plano indicando que la descarga de la neurona era aleatoria (Figura 1A).

El tamaño del CR de estas neuronas fue muy variable. El CR pudo variar desde una extensión aproximada de 1 mm^2 , generalmente situados en los dedos de la extremidad, hasta un tamaño tan grande como todo el hemicuerpo inferior. Sin embargo, lo más habitual fue que las neuronas tipo I tuvieran un CR nítido y que la respuesta sensorial presentara una adaptación rápida durante la aplicación de pulsos de aire o estímulos mecánicos de 200 o 300 ms de duración. Las neuronas tipo I incluidas en este estudio presentaron CRs en la pata trasera, perfectamente delimitados.

Las células tipo II tuvieron una frecuencia media de descarga de $18,1 \pm 10$ Hz (rango 12-82 Hz; Figura 1B). Todas ellas mostraron una actividad espontánea alta, y unos potenciales de acción con una duración media de $0,32 \pm 0,008$ ms, significativamente menor que las tipo I ($p=0,02$). Estas neuronas se caracterizaron por presentar siempre una actividad rítmica, tanto en condiciones de reposo como bajo estimulación de su CR (49 de 49 neuronas, 100%; Figura 1B). Como se puede observar en los histogramas de autocorrelación, la existencia de picos y valles en el histograma indica la presencia de actividad rítmica. La oscilación de las neuronas tipo II fue muy marcada tanto en condiciones espontáneas como durante la estimulación táctil en el CR, a una frecuencia media de oscilación de $18,1 \pm 0,54$ Hz (rango: 8-25 Hz).

Además de su mayor frecuencia de disparo espontáneo y su actividad claramente rítmica, las neuronas tipo II se diferenciaron por presentar un CR menos preciso o, en algunos casos, requerían mayores intensidades de estimulación para producir respuestas. Las neuronas tipo II también mostraron una respuesta sensorial de adaptación rápida durante la estimulación táctil con pulsos de 200 o 300 ms de duración.

Para determinar si las neuronas tipo I y tipo II registradas eran de proyección lemniscal hacia el tálamo, se estimuló eléctricamente el lemnisco medio para generar respuestas antidrómicas en las neuronas de los NCD. Se registraron 21 neuronas tipo I de las cuales 12 fueron activadas antidrómicamente, mientras que de 9 células del tipo tipo II, ninguna resultó activada con la estimulación lemniscal. Los criterios para considerar que se trataba de una estimulación antidrómica fueron: presentar una latencia fija a la estimulación ($2,1 \pm 0,15$ ms); seguir frecuencias de estimulación por encima de 100 Hz y bloqueo del disparo antidrómico cuando disparaba espontáneamente una espiga inmediatamente antes de la aplicación del estímulo eléctrico al lemnisco medio. En la Figura 2 se muestra un ejemplo de una neurona tipo I de proyección a través del lemnisco medial. Estos datos son similares a los descritos previamente en el que siempre se ha determinado que una población importante de las neuronas tipo I son de proyección mientras que en ningún caso se ha podido identificar a las neuronas tipo II como neuronas de proyección a través del lemnisco en la rata (Panetsos et al. 1997; Núñez et al. 2000; Costa y Núñez 2004).

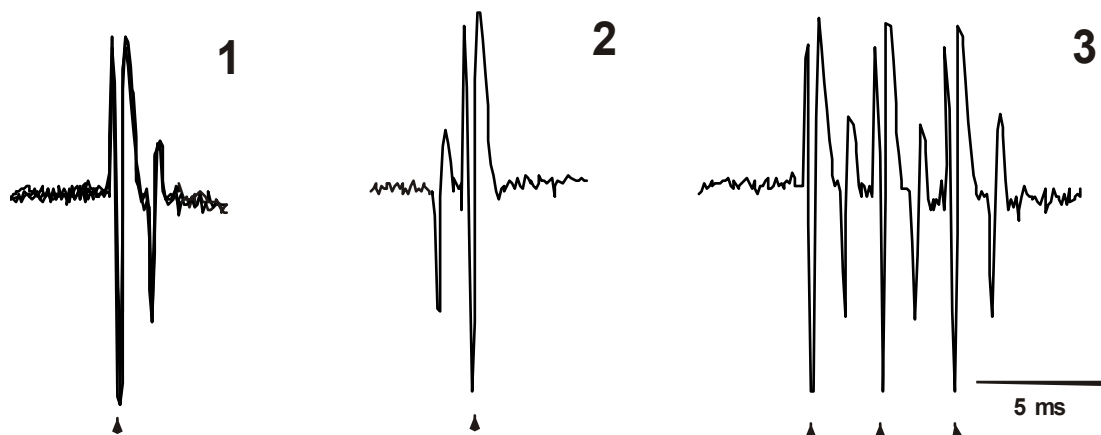


Figura 2.- Activación antidrómica de una neurona tipo I representativa con la estimulación eléctrica del lemnisco medio. Las espigas antidrómicas tienen una latencia constante (1; tres disparos superpuestos), se bloquean por una espiga espontánea previa (2) y eran capaces de seguir una alta frecuencia de estimulación (200 Hz 3). Las cabezas de flecha indican los artefactos de la estimulación.

La estimulación táctil breve (20 ms de duración) sobre los CRs de las neuronas de los NCD producía una respuesta de 1 a 5 espigas tanto en las neuronas tipo I como en las neuronas tipo II. La latencia media de las respuestas fue en las tipo I de $19,7 \pm 0,9$ ms y en las neuronas tipo II de $18,9 \pm 1,7$ ms, no habiendo diferencias significativas en ambas latencias. En las neuronas tipo I, tras la respuesta sensorial, se observó una inhibición de

la actividad espontánea con una duración variable de 75 a 300 ms (en 90 de las 140 registradas). En las neuronas tipo II la inhibición se pudo observar en todos los casos y tuvo una duración más breve que la que se observó en las neuronas tipo I, que fue de 15 a 90 ms (Figura 3).

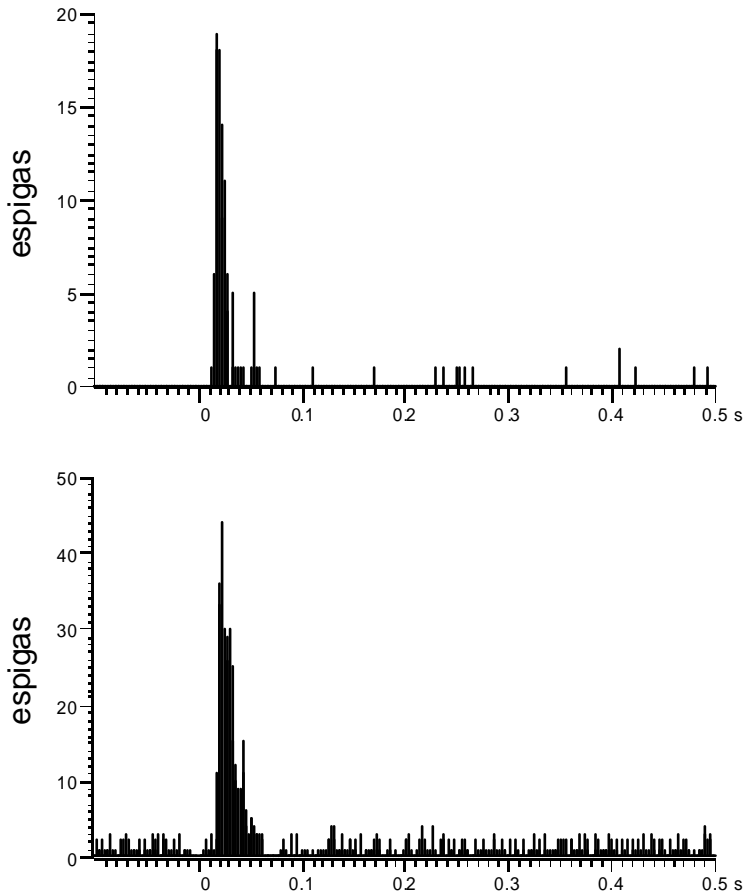


Figura 3.- Sendos ejemplos de histogramas peri-estímulo de una neurona tipo I (arriba) y una tipo II (abajo). Se muestra la suma de 30 estímulos en ambos casos.

Cuando se aplicaron estímulos de larga duración (200 ó 300 ms de duración), la latencia de las respuestas táctiles fue similar a la de los estímulos de 20 ms de duración en ambos tipos celulares ($19,7 \pm 0,9$ ms en las neuronas tipo I y $18,9 \pm 1,7$ ms en las neuronas tipo II). La inmensa mayoría de las neuronas tipo I y tipo II presentaron una adaptación rápida, neuronas fásicas (152 de 189 células; 80%), y el resto de las neuronas presentaron una respuesta fásico-tónica (37 células; 20%). Las neuronas con respuesta fásico-tónica fueron todas neuronas tipo II.

En 28 casos de neuronas con respuesta fásica, las células respondían tanto al inicio del estímulo como al cese del mismo (neuronas "on-off"); todas estas neuronas con respuesta "on-off" eran del tipo tipo I (Figura 7).

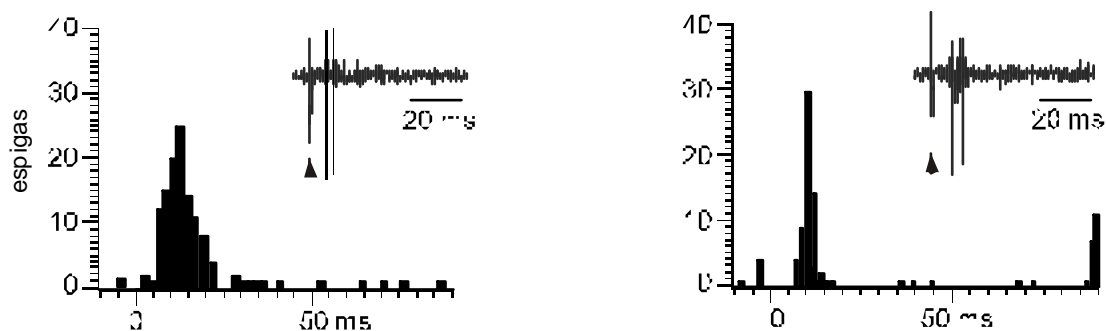
2.- Estimulación cortical

Se han analizado las respuestas de 143 células del núcleo gracil a la estimulación eléctrica de la corteza SI contralateral. Teniendo en cuenta los resultados que se presentarán posteriormente, estas neuronas se dividieron en dos grupos para su análisis: 1) neuronas que presentaron CRs iguales al área cortical estimulada y 2) neuronas con CRs totalmente diferentes a las neuronas corticales estimuladas eléctricamente.

La estimulación cortical (0,3 ms de duración a 0,5 Hz) de baja intensidad ($<50 \mu\text{A}$) generó 1-3 espigas ($1,9 \pm 0,12$ espigas/estímulo) en todas las neuronas tipo I registradas ($n= 56$) con CRs coincidentes al área cortical estimulada. Estas neuronas tipo I respondieron de forma ortodrómica con una latencia media de $10,3 \pm 0,92$ ms (rango entre 8 -16 ms; Figura 4A). Las neuronas tipo II (8 de 19 neuronas; 44%) con CRs coincidentes con el área cortical estimulada también se activaban con la estimulación cortical a intensidades bajas ($<50 \mu\text{A}$; Figura 4A). Cuando se aumentó la intensidad de la estimulación, el porcentaje de neuronas tipo II que se activaron ortodrómicamente por la estimulación cortical aumentó hasta el 68% (13 de 19 neuronas), todas ellas con una respuesta de características similares a las respuestas de las neuronas tipo I ($2,2 \pm 0,14$ espigas/estímulo, latencia de $8,7 \pm 0,32$ ms).

Cuando los CRs no coincidían, la estimulación cortical con corrientes de baja intensidad no produjo activación en ninguna neurona tipo I ($n= 38$) o tipo II ($n= 30$). Sólo se obtuvo respuestas cuando la intensidad aumentó por encima de $50 \mu\text{A}$ ($50\text{-}100 \mu\text{A}$). Con intensidades de corriente mayores de $50 \mu\text{A}$, un 63 % de las neuronas tipo I se activaron (24 de 38 neuronas). En cuanto a las neuronas HF, sólo se activaron con altas intensidades de corriente (17 de 30 neuronas; 57%). Aunque su latencia de respuesta era similar a las de las neuronas con CRs coincidentes ($8,1 \pm 0,27$ ms y $7,9 \pm 0,42$ ms para las neuronas tipo I y tipo II respectivamente), la estimulación cortical provocó muchas menos espigas por estímulo cortical en las neuronas con CRs no coincidentes ($0,6 \pm 0,04$ y $0,8 \pm 0,06$ espigas/estímulo respectivamente; Figura 4B), a pesar que la intensidad de estimulación era más alta. En ningún caso se observó que la estimulación cortical provocase una inhibición sin una excitación (respuesta ortodrómica) previa. En ningún caso se observaron respuestas antidrómicas en las neuronas del núcleo gracil por estimulación cortical.

A



B

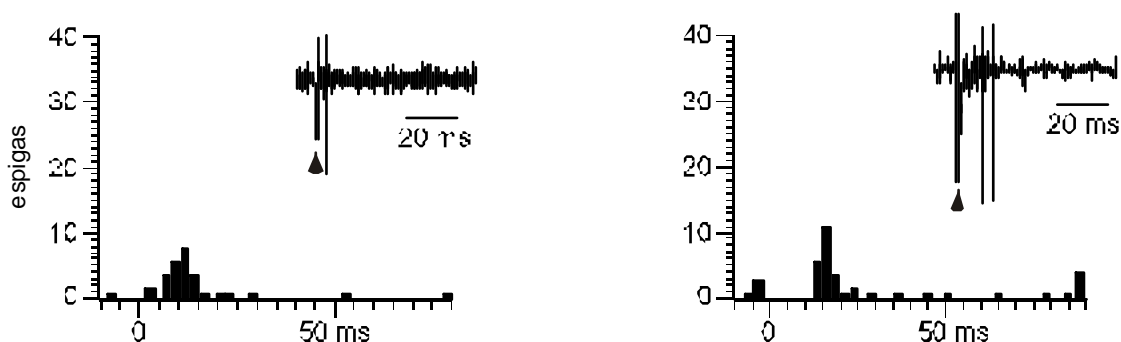


Figura 4.- Respuesta de las neuronas del núcleo gracil a la estimulación eléctrica cortical. (A) Histogramas peri estímulo de las respuestas evocadas por la estimulación cortical en una neurona tipo I y en una tipo II (histograma de la izquierda y de la derecha respectivamente) ambas con un CR coincidente con el área cortical estimulada en cada caso. (B) Histogramas peri estímulo de las respuestas evocadas por la estimulación cortical en una neurona tipo I y en una tipo II (histogramas de la izquierda y de la derecha respectivamente) ambas con un CR no coincidente con el área cortical estimulada. Los histogramas son la suma de 40 estímulos. En el cuadrante superior derecho de cada histograma se muestra un ejemplo de un registro con la respuesta a un único estímulo en cada caso y las cabezas de flecha señalan el estímulo cortical.

Cuando los CRs coincidían, la aplicación de un tren de estimulación eléctrica cortical (0,3 ms de duración a 100 Hz durante 500 ms) generó una facilitación de las propias respuestas a estímulos corticales simples (facilitación homosináptica) tanto en células tipo I (10 de 12 células; 83%) como en tipo II (6 de 7 células; 86%; Figura 5A). En el control, los estímulos corticales simples provocaron una respuesta de $2,2 \pm 0,13$ espiigas/estímulo en las neuronas tipo I y de $2,3 \pm 0,11$ espiigas/estímulo en las neuronas tipo II. El tren de estimulación cortical provocó un aumento de la respuesta a estos estímulos simples inmediatamente después del tren de estimulación y

se prolongó en el tiempo. El incremento de respuestas siguió siendo estadísticamente significativo 5 minutos después de aplicado el tren de estimulación en las neuronas tipo I (de $2,2 \pm 0,13$ a $3,9 \pm 0,16$ espigas/estímulo; $p=0,002$) y en las neuronas tipo II (de $2,3 \pm 0,11$ a $3,5 \pm 0,18$ espigas/estímulo; $p=0,005$) y volvieron a los valores control a los 15 o 30 minutos después de la aplicación del tren de estimulación en la corteza SI (Figura 5A). Junto con el aumento de respuesta a la estimulación cortical, en neuronas con CR coincidentes, se detectó un ligero aumento de la actividad espontánea de las neuronas tipo I después del tren de estimulación eléctrica que duró aproximadamente 5 minutos. Las neuronas tipo I aumentaron su actividad espontánea desde $0,9 \pm 0,02$ Hz a $1,5 \pm 0,02$ a los 5 minutos después de la estimulación cortical ($p=0,025$). En cambio, este cambio no ocurrió en las neuronas tipo II (de $7,8 \pm 1,08$ Hz a $7,1 \pm 1,92$ Hz).

En las neuronas con CRs no coincidentes los trenes de estimulación cortical no alteraron ni las respuestas a la estimulación cortical ni la actividad de las neuronas de los NCD. Las neuronas tipo I ($n=14$) presentaron una respuesta a los estímulos de la corteza SI de $0,9 \pm 0,15$ espigas/estímulo en el control y se mantuvo a $0,8 \pm 0,12$ espigas/estímulo tras 5 minutos después de la aplicación del tren de estimulación. Su actividad espontánea tampoco se modificó significativamente (desde $0,73 \pm 0,09$ a $0,57 \pm 0,2$ Hz). Lo mismo ocurrió en las neuronas tipo II ($n=12$) que presentaron una respuesta de $2,1 \pm 0,16$ espigas/estímulo en control y de $2,3 \pm 0,17$ espigas/estímulo a los 5 minutos después de la estimulación; la frecuencia espontánea de descarga tampoco se modificó (desde $12,9 \pm 1,16$ a $13,5 \pm 2,02$ Hz).

Estos fenómenos de facilitación homosináptica provocados por la estimulación de la corteza SI no se produjeron cuando se aplicó un tren de estímulos táctiles a 10 Hz. La Figura 5B muestra un ejemplo de una neurona tipo I que respondía a la aplicación de un estímulo táctil de 20 ms de duración en el CR situado en el dedo 1. La aplicación de un tren de estímulos táctiles (20 ms de duración a 10 Hz durante 500 ms) no alteró las respuestas a la estimulación táctil en las neuronas del núcleo gracil ($n=12$; Figura 5B).

La aplicación iontoforética de CNQX (1 mM, antagonista de receptores AMPA) inhibió por completo las respuestas ortodrómicas provocadas por la estimulación de la corteza SI en las neuronas de los NCD ($n=4$), confirmando que esta vía sináptica es glutamatérgica. En cambio, la aplicación iontoforética de APV (50 mM, antagonista de receptores NMDA)

solo disminuyó las respuestas ortodrómicas provocadas por la estimulación de la corteza SI en las neuronas del núcleo gracil (n= 6).

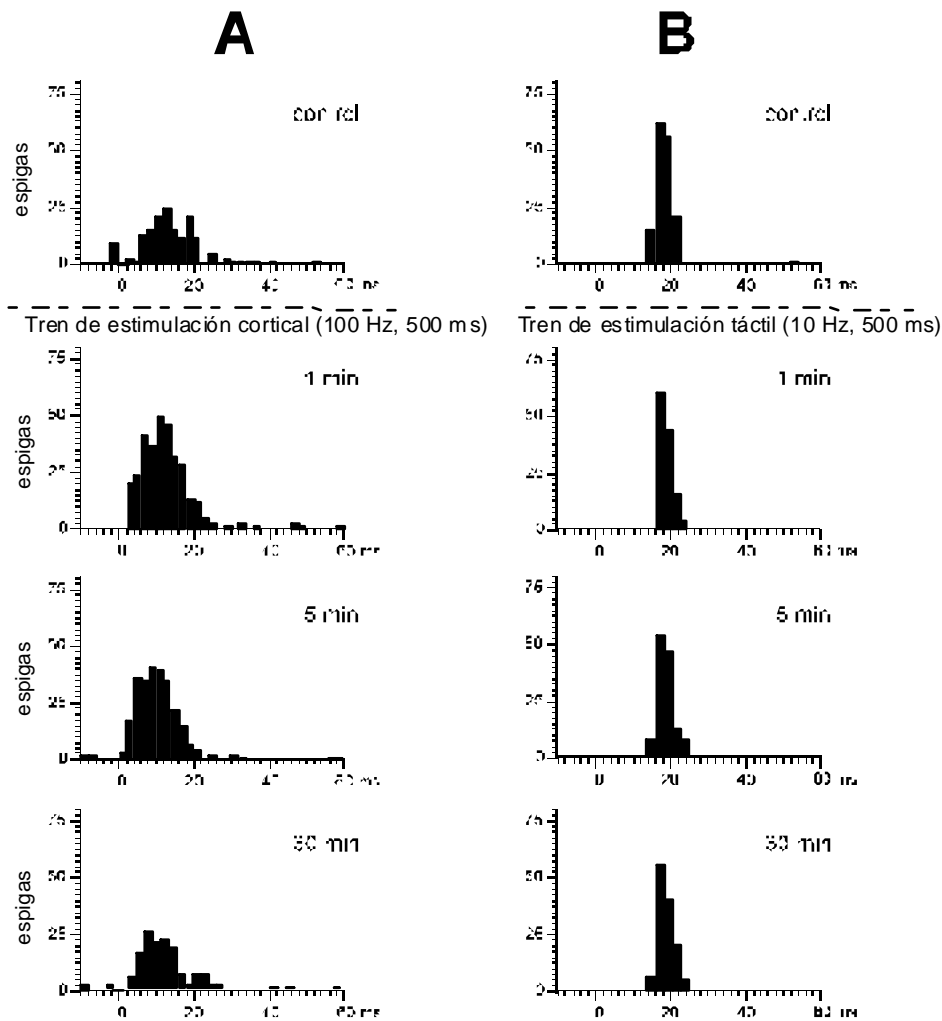


Figura 5.- Efectos de la estimulación cortical o táctil en trenes sobre las neuronas de los NCD. (A) Respuestas evocadas por la estimulación cortical (0,3 ms a 0,5 Hz) en una neurona tipo I antes (control) y después de un tren cortical de estímulos eléctricos (0,3 ms a 100 Hz durante 500 ms). Las respuestas corticales permanecieron facilitadas 1 y 5 minutos después del tren, retornando a los valores control a los 30 minutos. (B) Respuestas evocadas por estímulos táctiles (20 ms a 0,3 Hz) administrados sobre el 1^{er} dedo de la pata trasera en una neurona tipo I antes (control) y después de un tren de estímulos táctiles (20 ms a 10 Hz durante 500 ms). El tren de estímulos táctiles no alteró las respuestas. Los histogramas son la suma de 50 estímulos.

Por tanto, la estimulación cortical provoca la descarga ortodrómica de las neuronas del núcleo gracil con CRs solapados con el área cortical estimulada y además provoca una facilitación homosináptica de estas mismas respuestas cuando se aplica un tren de estímulos.

3.- Efecto de la estimulación cortical sobre las respuestas táctiles.

Estos fenómenos de plasticidad neuronal inducidos por la estimulación de la vía corticofugal en las neuronas del núcleo gracil podrían provocar cambios no solo en la vía corticofugal estimulada sino también en la respuesta de estas mismas neuronas a estímulos táctiles. Es decir, se podría producir una facilitación heterosináptica que facilitase la transferencia de información somatosensorial.

Para estudiar el efecto de la estimulación cortical sobre la respuesta de las neuronas del núcleo gracil a la estimulación somestésica, se aparearon los estímulos táctiles periféricos (pulsos de aire o estimulación mecánica de 20 ms de duración) con estímulos simples eléctricos en la corteza SI (0,3 ms de duración), aplicados con una intensidad menor de $50 \mu A$ para intentar que la estimulación cortical fuera lo más localizada posible. Teniendo en cuenta que la estimulación de la vía corticofugal provocaba efectos diferentes dependiendo de que los CRs fueran solapados o diferentes, el efecto de la estimulación cortical también se estudió en estas dos condiciones.

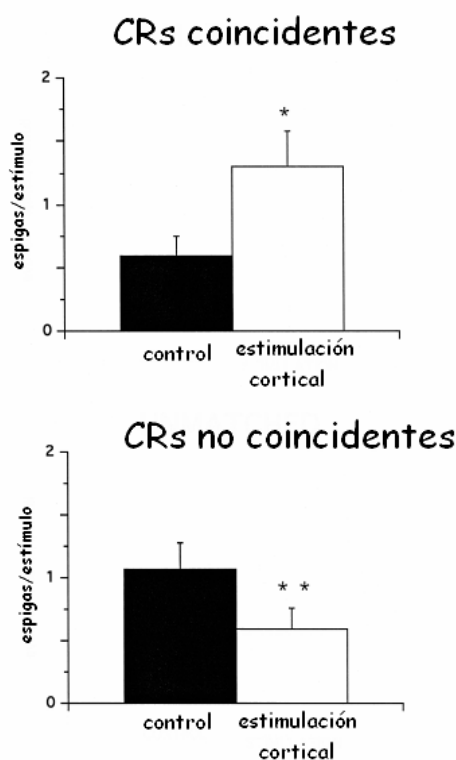


Figura 6.- Cambios en la eficacia de las respuestas táctiles de las neuronas del núcleo gracil provocados por la estimulación cortical (n=67). El número de espigas evocadas por cada estímulo táctil fue medido en condiciones control (barra negra) y cuando se le apareaba la estimulación cortical (barra blanca). Con CRs coincidentes la estimulación cortical aumentó el número de espigas por estímulo evocadas. Con CRs no coincidentes, el efecto cortical más frecuente fue una disminución del número de espigas por estímulo. La respuesta media se calculó tras la aplicación de 20 estímulos. * $p < 0,005$; ** $p < 0,001$.

Cuando los CRs coincidían, la estimulación cortical facilitó las respuestas a la estimulación táctil en 37 de 43 células estudiadas (86%), incluyendo células del tipo tipo I y tipo II. La facilitación consistió en un aumento de la eficacia de la célula (número de espigas generadas por un estímulo táctil; Figura 6). El resto de las neuronas no modificaron su respuesta (n= 6).

Estos resultados pueden indicar que la estimulación cortical provoca el disparo de potenciales de acción en la neurona del núcleo gracil y que inmediatamente después las respuestas táctiles fueran facilitadas. Sin embargo, el estudio de las neuronas con una respuesta "on-off" a estímulos de larga duración (responden al inicio y al final del estímulo táctil) indicó que el efecto facilitador se mantenía en el tiempo. En estas neuronas "on-off", la facilitación provocada por el estímulo cortical de 0.3 ms de duración ocurría tanto para la respuesta "on" como para la respuesta "off", mostrando que el fenómeno de facilitación cortical no se producía solo inmediatamente después del estímulo cortical sino que duraba al menos el tiempo que duraba el estímulo táctil (200-300 ms; Figura 7).

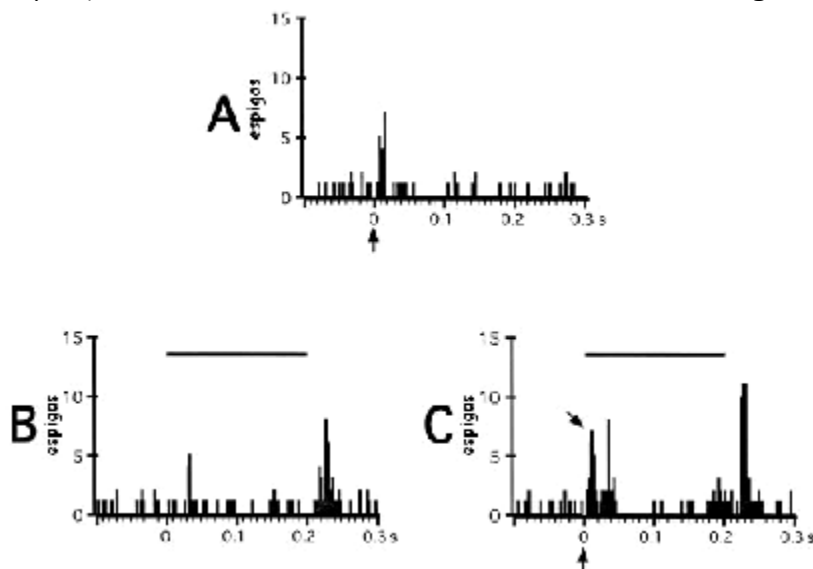


Figura 7.- Efectos de la estimulación cortical sobre la estimulación táctil en el núcleo gracil; CRs coincidentes. (A) Respuesta evocada por la estimulación cortical en una neurona tipo I. (B) Respuesta evocada por chorros de aire (200 ms) administrados sobre el 3^{er} dedo de la pata trasera. (C) El estímulo táctil se aparea con un único estímulo eléctrico en la corteza SI; la respuesta somatosensorial se ve facilitada. La flecha inclinada indica la respuesta evocada por el estímulo cortical. La referencia cero en (B) y (C) indica el inicio de la estimulación táctil y su duración queda indicada por la barra horizontal. La estimulación cortical se produce en el punto que muestra la flecha vertical. Los histogramas son la suma de 20 estimulaciones. Véase cómo esta neurona responde al inicio y al final de la estimulación táctil (neurona "on-off") y cómo el efecto facilitador del estímulo cortical permanece más allá de 200 ms porque afecta también a la respuesta "off".

En los casos en que el CR era suficientemente amplio para poder estimular sensorialmente el centro funcional del CR como su periferia, se observó que el efecto facilitador se producía fundamentalmente en el centro del CR (común con el CR del área cortical estimulada), en cambio, la periferia era menos facilitada o incluso podía resultar inhibida por el mismo estímulo (Figura 8).

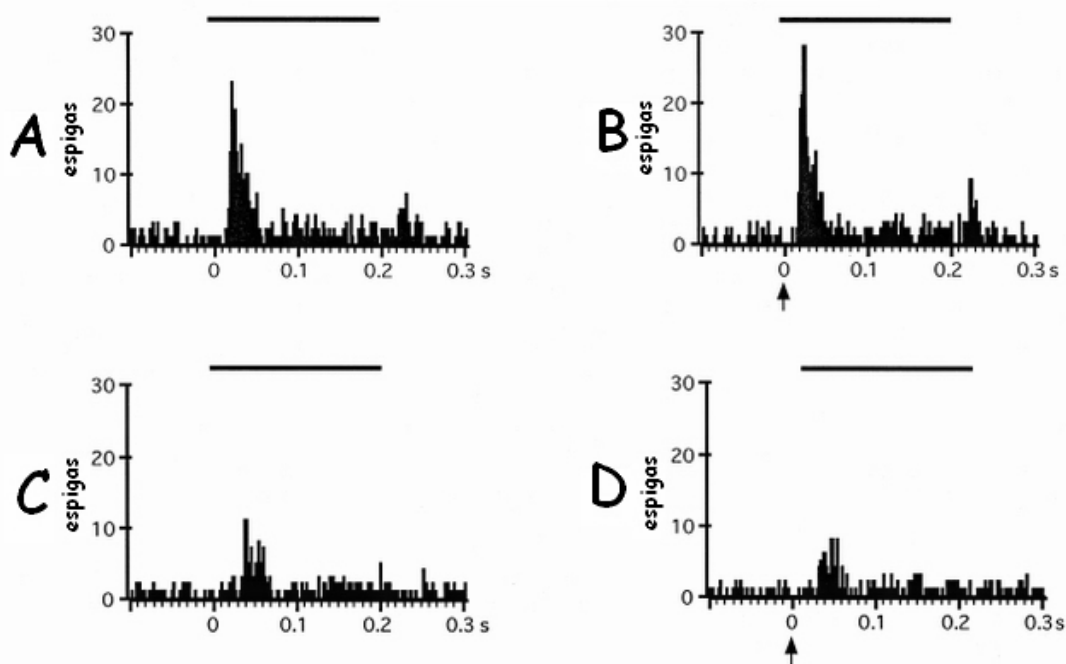


Figura 8.- Efectos de la estimulación cortical sobre una neurona tipo II. (A-B) Respuesta evocada por chorros de aire (200 ms) administrados en la cara palmar de la extremidad posterior y los cambios que se producen cuando en el inicio de la estimulación táctil se aparece un estímulo cortical único, respectivamente. Los CRs de la corteza SI y del gracil se solapaban y la estimulación cortical facilitó la respuesta táctil. (C-D) Respuestas evocadas en la misma neurona por la estimulación táctil de la periferia del CR y pareada con un estímulo cortical único, respectivamente. La periferia del CR de esta neurona no se solapaba con el CR cortical, la respuesta táctil en este caso se ve inhibida. La referencia cero indica el inicio del estímulo táctil y la duración está indicada por la barra horizontal. La estimulación cortical se produjo donde indica la flecha vertical. Los histogramas son la suma de 20 estimulaciones.

En cambio, cuando los CRs del área cortical estimulada y de la neurona del gracil registrada no se solapaban, la estimulación cortical provocaba la inhibición de la respuesta táctil en 16 de 24 neuronas estudiadas (67%; Figura 6, CRs no coincidentes). Esta inhibición se producía tanto en el centro del CR como en su periferia (Figura 9). La inhibición provocada por la estimulación cortical cuando los CRs eran no coincidentes también se produjo para los dos componentes de las respuestas "on-off". Tanto la respuesta "on" como la "off" fueron inhibidas en la misma proporción. El resto de las neuronas o aumentaron su respuesta al estímulo táctil (n= 5) o

no cambiaron su respuesta ($n= 3$). Estos cambios se produjeron cuando se utilizaron intensidades de estimulación cortical $<50 \mu A$. Cuando se utilizaron intensidades mayores la mayoría de las neuronas fueron inhibidas, independientemente de que sus CRs estuvieran solapados o no solapados.

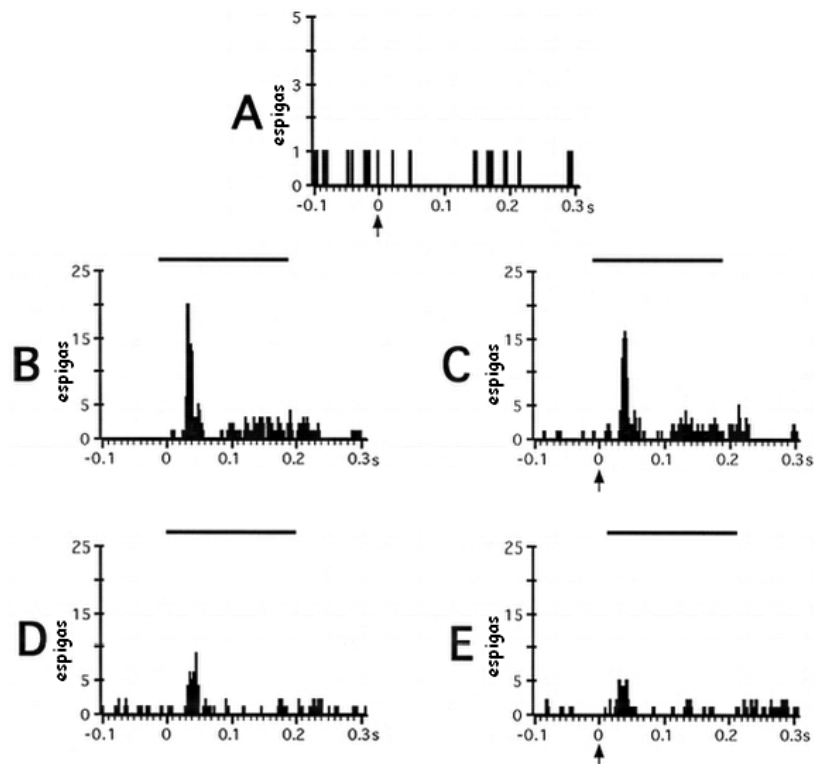


Figura 9.- Efectos de la estimulación cortical cuando los CRs no coinciden. (A) Respuesta de una neurona tipo I evocada por la estimulación cortical. (B-C) Respuesta evocada por la estimulación mecánica (200 ms) administrada sobre el 1^{er} dedo de la pata trasera y los cambios que se producen cuando se aparea un estímulo eléctrico cortical en el inicio del estímulo mecánico, respectivamente. (D-E) Respuestas evocadas en la misma neurona por la estimulación táctil de la periferia del CR y pareada con un estímulo cortical único, respectivamente. En ambos casos las respuestas se inhibieron. La referencia cero en (B)-(E) indica el inicio del estímulo táctil y la duración está indicada por la barra horizontal. La estimulación cortical se produjo donde indica la flecha vertical. Los histogramas son la suma de 20 estimulaciones.

4.- Curso temporal de los efectos de estimulación cortical.

En el apartado anterior se estudió la interacción entre estímulos simples aplicados sobre la corteza SI y su influencia sobre respuesta táctil. Para estudiar los efectos a largo plazo de la facilitación provocada por la estimulación eléctrica de la corteza SI, se aplicó un tren de estímulos corticales (pulsos de 0,3 ms de duración a 100 Hz durante 500 ms) y se determinaron los cambios en la respuesta a estímulos táctiles de las

neuronas del núcleo gracil antes y después de la aplicación del tren de estímulos y dependiendo de si los CRs estaban solapados o eran diferentes.

En el caso de CRs solapados, el efecto facilitador de la corteza SI se observó inmediatamente después del tren cortical (1 minuto) y permaneció al menos durante 5 minutos después de la estimulación cortical, tanto en células tipo I (26 de 33 células; 79%) como en las neuronas tipo II (11 de 16 células; 69%). La facilitación consistió en el aumento estadísticamente significativo del número de espigas evocadas por los estímulos táctiles, tal y como ocurría con los estímulos corticales simples (Figura 10A). Los valores de la respuesta de la neurona del núcleo gracil retornaron a los niveles control 15 minutos después de la aplicación del tren de estímulos cortical.

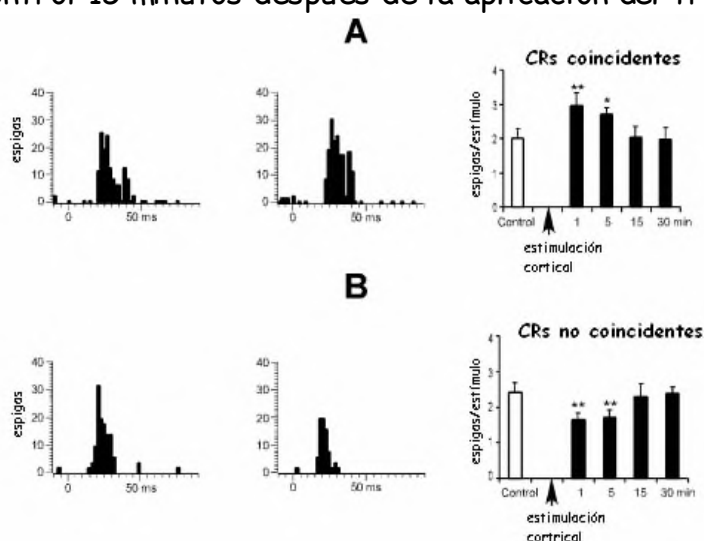


Figura 10.- Curso temporal de los efectos de la estimulación cortical sobre las respuestas táctiles en el núcleo gracil. (A) Respuestas evocadas por los estímulos táctiles en una neurona tipo I. Los histogramas periestímulo muestran la respuesta táctil antes (izquierda) y 1 minuto después (derecha) de un tren de estímulos corticales (0,3 ms a 100 Hz durante 500 ms) en neuronas con un CR coincidente con el CR del área cortical estimulada. El gráfico de la derecha muestra la respuesta táctil media antes y en intervalos de tiempo después del tren de estímulos corticales (n=22). Nótese cómo la respuesta de las neuronas del gracil se ve facilitada por la estimulación cortical. (B) es equivalente a los histogramas y el gráfico de (A) pero en este caso los CRs no coinciden. Nótese cómo en este caso la estimulación cortical produce una inhibición. El gráfico de la derecha muestra la respuesta táctil media (n=30). Los histogramas son la suma de 40 estímulos.

En el caso de CRs no coincidentes, el tren cortical indujo una inhibición de las respuestas táctiles tanto en neuronas tipo I (25 de 43 células; 58%) como en neuronas tipo II (5 de 25; 20%) inmediatamente después de la estimulación cortical (1 minuto) y 5 minutos después de la estimulación cortical (Figura 10B). Los valores de la respuesta a los 15 y 30 minutos después de la estimulación cortical fueron similares a los valores control. El

resto de neuronas registradas con CRs no coincidentes, no se vieron afectadas significativamente por la estimulación cortical.

Estos cambios en la respuesta a estímulos táctiles provocados por la estimulación cortical no se acompañaron con cambios en la actividad espontánea de las neuronas del núcleo gracil, tanto si el área cortical estimulada tenía o no un CR coincidente con la neurona registrada.

Estos resultados indican que la estimulación de un área cortical con el mismo CR que la neurona del núcleo gracil provoca una facilitación de las respuestas táctiles y una disminución de su CR que dura aproximadamente 5 minutos. Sin embargo, este proceso de facilitación podría no tener un significado funcional relevante si no se pudiera revertir fácilmente ya que en la naturaleza el organismo está siendo estimulado sensorialmente en muchos sitios simultáneamente.

Para determinar si se podía revertir este proceso de facilitación cortical se colocaron dos electrodos de estimulación sobre la corteza SI, en dos CRs diferentes. Se registraron 12 neuronas del núcleo gracil con un CR superpuesto al del área cortical de uno de los electrodos de estimulación y distinto del otro. El electrodo de estimulación cortical con un CR igual al de la neurona del núcleo gracil provocó la facilitación de sus respuestas a estímulos táctiles, como esperábamos. Esta facilitación debería durar al menos 5 minutos, sin embargo, la facilitación se bloqueó al estimular otra área cortical con un CR diferente.

La Figura 11 muestra un experimento ilustrativo en el que la estimulación táctil del primer dedo, induce una respuesta en una neurona del núcleo gracil (histograma de la izquierda). Tras un tren de estimulación (0,3 ms de duración a 100 Hz durante 500 ms) en una zona de SI con un CR similar al de la célula del gracil registrada (sitio 1), se produjo una facilitación de la respuesta sensorial (histograma del medio). Un tren de estímulos corticales similar aplicado 1 minuto más tarde en un segundo sitio cortical con CR diferente (sitio 2, CR en la pata delantera) bloqueó la facilitación táctil recuperando los valores previos de respuesta a la estimulación táctil (histograma de la derecha).

Estos resultados muestran que la facilitación provocada por la estimulación de la vía corticofugal es un proceso adaptable que se puede revertir si se estimula un área cortical con un CR diferente.

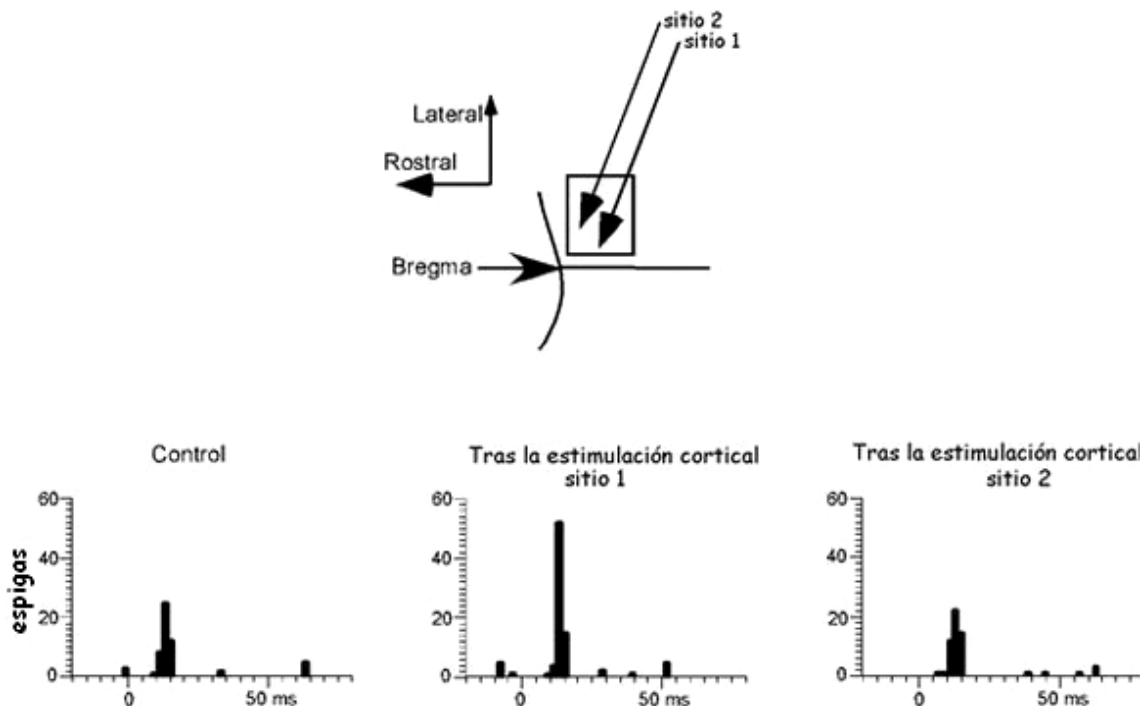


Figura 11.- Efecto que tiene la estimulación de distintas áreas de la corteza SI sobre las respuestas táctiles en el núcleo gracil. Esquema de las áreas corticales estimuladas e histogramas periéstímulo de las respuestas táctiles de una neurona representativa del gracil. El electrodo de estimulación cortical en el sitio 1 tenía el mismo CR que la neurona del gracil, sin embargo el CR en el sitio 2 no coincidía. Un tren de estímulos corticales (0,3 ms a 100 Hz durante 500 ms) en el sitio 1 facilitó las respuestas táctiles. Un minuto más tarde, un tren de estímulos corticales igual al anterior pero en el sitio 2, bloqueó la facilitación de la respuesta táctil. Los histogramas son la suma de 40 estímulos.

5.- Efecto de la estimulación cortical sobre los CRs de las neuronas del núcleo gracil.

En estudios de las respuestas sensoriales de las neuronas de la corteza cerebral se ha demostrado que fenómenos de plasticidad sensorial venían acompañados de cambios en el tamaño del CR. En una primera impresión, los resultados de la estimulación cortical sobre las neuronas del núcleo gracil indicaban que el CR de estas neuronas disminuía después de la estimulación cortical cuando los CRs de la neurona registrada y del área cortical estimulada se solapaban (Figura 8).

Este efecto se comprobó en 9 células del tipo I y 4 células del tipo II que presentaban un CR suficientemente amplio para poder estimular el centro del CR y su periferia. Se definió como centro funcional del CR el lugar en el que el estímulo táctil provocaba la máxima respuesta (Figura 12A, sitio 1). En cambio, la respuesta era menor según nos alejábamos del centro funcional; estímulos táctiles aplicados en la periferia (Figura 12A, sitio 2).

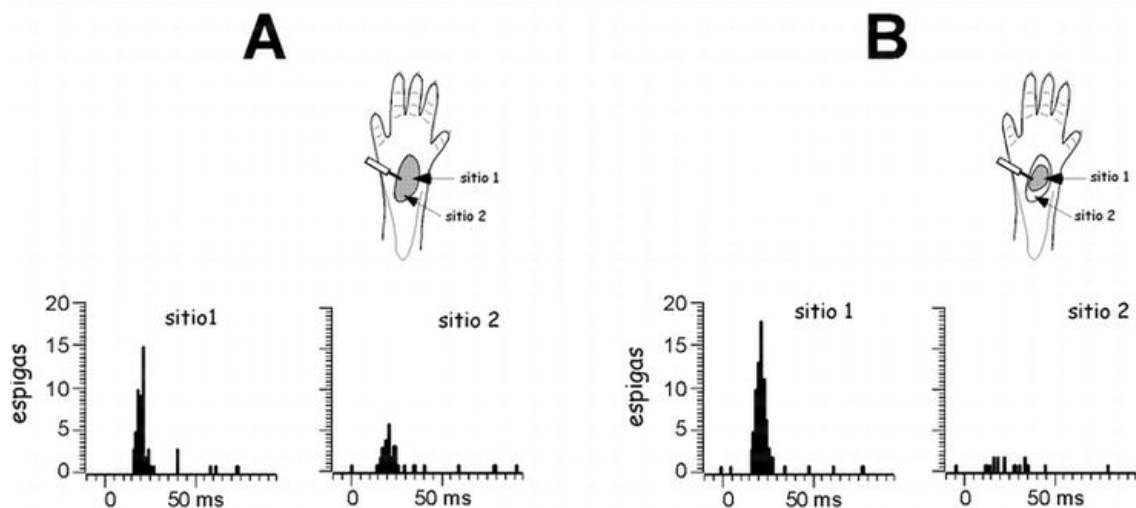


Figura 12.- Cambios en el CR de neuronas del núcleo gracil evocados por la estimulación cortical en un área con CR coincidente. (A) Representación del CR de una neurona del gracil y el histograma periestímulo de las respuestas evocadas por los estímulos táctiles administrados en dos puntos diferentes (sitio 1, centro funcional del CR; sitio 2, periferia del CR). (B) Un minuto después de un tren de estímulos corticales (0,3 ms a 100 Hz durante 500 ms) las respuestas táctiles se incrementan en el centro del CR y disminuyen en la periferia, provocando una reducción del tamaño del CR. El CR es el área rellena de color gris. Los histogramas son la suma de 20 estímulos.

Tras la aplicación del tren cortical, la respuesta sensorial a la estimulación del centro funcional aumentó, y simultáneamente disminuyó o incluso desapareció cuando los estímulos se dirigieron a la periferia del CR (Figura 12B). En algún caso la disminución de la respuesta táctil en la periferia fue tan importante que la respuesta desapareció por completo. Estos resultados ocurrieron en las 13 neuronas estudiadas indicando que la facilitación cortical tiende a enfocar las respuestas celulares hacia el centro funcional del CR cuando se estimulaba un área cortical SI con el mismo CR que la neurona del núcleo gracil registrada.

6.- Efecto de la estimulación cortical sobre la estimulación táctil con pares de pulsos.

Se ha sugerido que la modulación de la transmisión sináptica inhibitoria en los NCD podría producir cambios en la magnitud de las respuestas táctiles así como en el tamaño del CR, de acuerdo, por ejemplo, con los estudios realizados mediante desaferentización periférica (Panetsos et al., 1997). Para cuantificar la inhibición en el núcleo gracil utilizamos un protocolo de pares de estímulos (estímulo condicionante y estímulo test). El primer estímulo táctil es el que llamamos condicionante, e inmediatamente después de él, a intervalos de 30, 50 y 100 ms, damos un segundo estímulo táctil con

las mismas características de intensidad, duración (20 ms) y sobre el mismo lugar del CR. Cada par de pulsos se repitió con una frecuencia de 0,5 Hz. Para su análisis se calculó la proporción entre las respuestas al estímulo test y al estímulo condicionante para cada uno de los intervalos que los separaban. En la situación control la proporción entre ambas respuestas fue menor de 1 a intervalos de 30 y 50 ms, indicando que hay una inhibición de las respuestas al estímulo test, mientras que con intervalos de 100 ms las respuestas al estímulo test eran similares y la proporción fue aproximadamente 1 (Figura 13A).

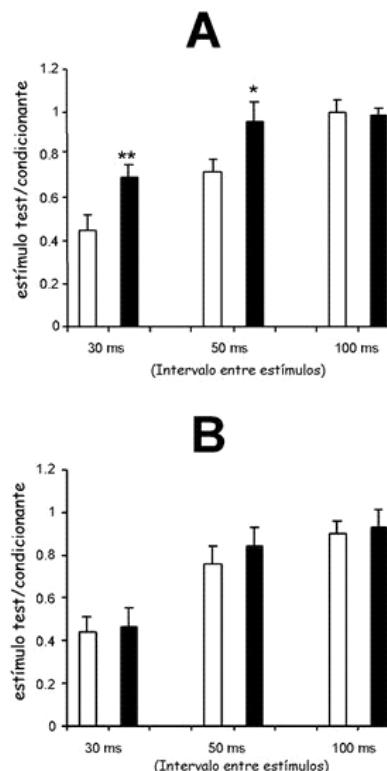


Figura 13.- Actividad evocada en las neuronas del gracil por la estimulación táctil en pares de pulsos. (A) Gráfico de la proporción de respuestas evocadas entre el segundo y el primer estímulo de cada par (cada estímulo fue de 20 ms y se dio un par de estímulos cada 2 segundos) a diferentes intervalos de tiempo entre los dos estímulos en neuronas del gracil (n=14) con un CR coincidente con el área de estimulación cortical. En la situación control (barras blancas) el segundo estímulo producía menos respuesta a intervalos de 30 y 50 ms. Un minuto después de un tren de estimulación cortical (0,3 ms a 100 Hz durante 500 ms) la proporción entre el segundo y el primer estímulo aumentó (barras negras), indicando una reducción de la inhibición. (B) Igual que (A) pero en este caso los CRs no coinciden con el área de estimulación cortical (n=19). La estimulación de la corteza no modifica en este caso la proporción de respuestas entre el segundo y el primer estímulo de cada par.

La estimulación eléctrica de la corteza SI (tren de estímulos de 0,3 ms de duración a 100 Hz durante 500 ms) en el caso de neuronas registradas con CR coincidentes provocó una disminución significativa de la inhibición a los intervalos de 30 y 50 ms en las 14 neuronas del núcleo gracil registradas (9 neuronas tipo I y 5 neuronas tipo II). En condiciones control, la proporción entre el estímulo test y el condicionante fue de 0,42 a los 30 ms de retardo y de 0,75 a los 50 ms de retardo. Después de la estimulación de la corteza SI en un área con los CRs coincidentes, esta proporción aumentó significativamente hasta 0,70 y 0,90, respectivamente ($p=0,005$ y $p=0,008$). A intervalos de 100 ms no se observó ninguna modificación significativa de esta la proporción (Figura 13A).

Sin embargo, la proporción entre el estímulo test y el estímulo condicionante no se vio afectada por la estimulación eléctrica cortical en los casos en que los CRs del área cortical estimulada y de la neurona del núcleo gracil registrada no coincidían (19 células; 12 células tipo I y 7 células tipo II; Figura 13B).

Por tanto, la estimulación cortical provoca un aumento de las respuestas táctiles de las neuronas del núcleo gracil, posiblemente mediante un aumento de la excitabilidad de estas neuronas, pero además provoca una disminución de la inhibición, lo que contribuye también a aumentar la respuesta a los estímulos táctiles.

7.- Efecto de la estimulación cortical sobre la actividad rítmica de las neuronas de los NCD.

Se ha descrito que las neuronas de los NCD presentan actividad oscilatoria en condiciones de actividad espontánea, neuronas tipo II, o durante la estimulación táctil de su CR, neuronas tipo I y tipo II (Panetsos et al. 1998, Nuñez et al. 2000; ver Figura 1). Estos autores han sugerido que la actividad oscilatoria presentada por las neuronas tipo I y II durante la estimulación sensorial puede contribuir al procesamiento de la información somatosensorial en los NCD ya que permite que se sincronicen neuronas que comparten el mismo CR. Por tanto, la estimulación de la corteza SI podría modular esta actividad.

Se estudió la actividad rítmica de las neuronas tipo I después de la estimulación de la corteza SI cuando los CRs se solapaban. La mayoría de las neuronas tipo I que mostraron actividad rítmica durante la estimulación de

su CR (10 de las 16 neuronas estudiadas) aumentaron su actividad oscilatoria tras la estimulación cortical. La Figura 14 ilustra un ejemplo demostrativo en la que se muestran los histogramas de autocorrelación en condiciones espontáneas, y durante la estimulación táctil de su CR. La neurona presentó un histograma de autocorrelación plano en condiciones espontáneas que indicaba que su descarga era arrítmica. La estimulación del CR con un estímulo táctil de 20 ms de duración durante un minuto indujo una actividad rítmica a 10 Hz, como se muestra por la existencia de picos y valles en el autocorrelograma (Figura 14). La aplicación de un tren de estímulos en la corteza SI (tren de estímulos de 0,3 ms de duración a 100 Hz durante 500 ms), en condiciones de CR solapados, provocó que la actividad rítmica aumentara durante la estimulación táctil (Figura 14), sin que apareciera actividad oscilatoria en condiciones espontáneas.

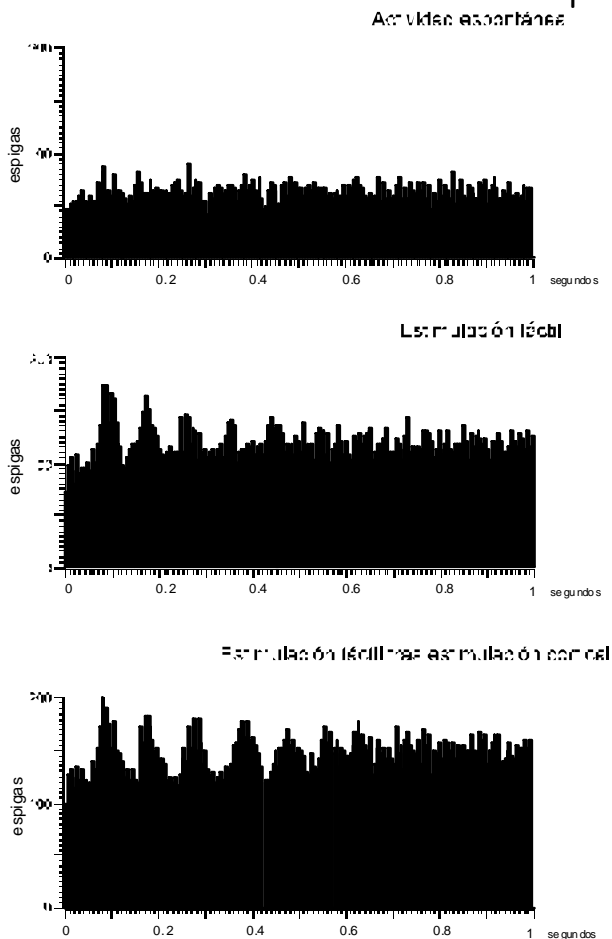


Figura 14.- Actividad oscilatoria en los NCD. Histogramas de autocorrelación de una neurona representativa en el núcleo gracil. Durante la actividad espontánea la neurona presentó un patrón arrítmico de descarga (histograma plano). Durante la estimulación táctil de su CR la misma neurona mostró una actividad rítmica a 10 Hz (los picos en el histograma indican actividad rítmica). Un minuto después de un tren de estimulación cortical (en un área cortical con el mismo CR), la estimulación táctil indujo también una actividad rítmica a 10 Hz. De todas formas los picos en el histograma son en este último caso más pronunciados, indicando que la estimulación cortical aumenta la actividad rítmica provocada por la estimulación sensorial en las neuronas del gracil.

La actividad rítmica de las neuronas tipo II también aumentó cuando se estimuló la corteza SI en un área con el mismo CR que la neurona registrada (n= 12). Este aumento en la actividad oscilatoria consistió en una mayor consistencia de la oscilación tanto en condiciones espontáneas como durante la estimulación táctil de su CR, como se observa en el autocorrelograma en el que los picos y valles son más notorios (Figura 15).

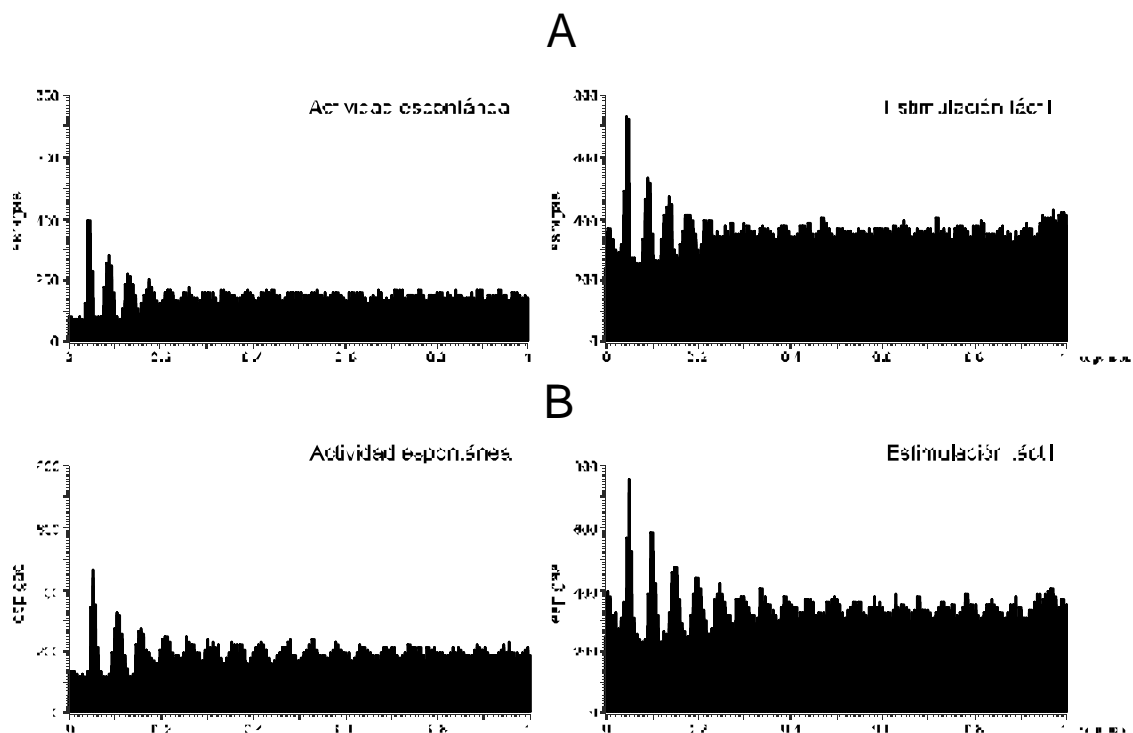


Figura 15.- Actividad oscilatoria en una neurona tipo II. Histogramas de autocorrelación de una neurona representativa en el núcleo gracil. Durante la actividad espontánea la neurona presentó un patrón rítmico de descarga que se mantuvo durante la estimulación táctil de su CR a una frecuencia de 20 Hz (A). Un minuto después de un tren de estimulación cortical (en un área cortical con el mismo CR), la oscilación, tanto en condiciones espontáneas como durante la estimulación táctil, aumentó (B), indicando que la estimulación cortical favorece la actividad oscilatoria de las neuronas tipo II.

Este efecto facilitador de la actividad rítmica de las neuronas tipo I y tipo II no se observó cuando se estimuló la corteza SI en un área diferente al CR de la neurona registrada en los NCD.

8.- Efecto de la decorticación del área SI sobre la actividad de las neuronas del núcleo gracil.

Estos resultados indican que la corteza ejerce un control de la respuesta sensorial de las neuronas del núcleo gracil a estímulos táctiles así como un control de su CR. Por tal motivo, una decorticación del área SI debería provocar cambios importantes en la actividad de las neuronas del núcleo gracil.

En 5 ratas se eliminó la actividad de la corteza SI mediante la inyección de lidocaína (2%, anestésico local; ver Materiales y Métodos) en la misma. Se registraron un total de 10 neuronas del tipo tipo I antes y después de la decorticación. El efecto inmediato fue un aumento muy significativo de la frecuencia de descarga espontánea (desde $1,8 \pm 0,31$ Hz en condiciones control a $3,1 \pm 0,41$ Hz después de la aplicación de lidocaína en la corteza SI). Este aumento de la actividad espontánea fue acompañado por un aumento de la respuesta al estímulo táctil tanto cuando se aplicaba al centro funcional (desde $2,1 \pm 0,15$ espigas/estímulo a $2,8 \pm 0,18$ espigas/estímulo; $p=0,012$; Figura 16) como cuando se aplicaba en la periferia del CR (desde $1,3 \pm 0,25$ espigas/estímulo a $2,0 \pm 0,38$ espigas/estímulo; $p=0,005$) sin que se observasen cambios significativos en la latencia de las respuestas táctiles. Estos resultados demuestran que el efecto general de la corteza SI sobre la actividad de las neuronas del núcleo gracil es fundamentalmente inhibitorio, tanto de su actividad espontánea como de la respuesta a estímulos táctiles. Sobre este efecto inhibitorio generalizado se producen los procesos facilitadores (muy localizados), que las neuronas corticales generan sobre aquellas neuronas del núcleo gracil que tienen su mismo CR.

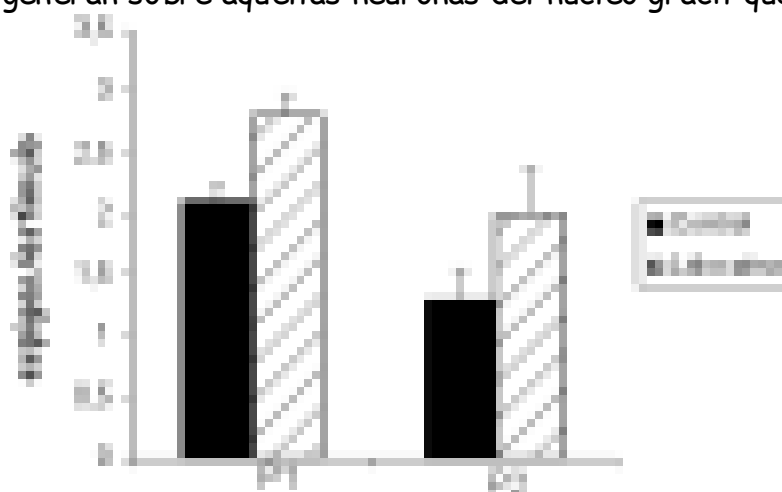


Figura 16.- Cambios en la respuesta de las neuronas del núcleo gracil a la estimulación táctil de su CR, en condiciones control o tras la decorticación funcional con lidocaína. P1 es la respuesta en el centro funcional del CR y P2 es la respuesta en un punto periférico del CR.

9.- Mecanismos implicados en la generación de la facilitación e inhibición corticofugal.

Como se indicó en la introducción, los neurotransmisores que median la mayor parte de las sinapsis de los NCD son el glutamato, el GABA y la glicina (ver Introducción). El glutamato es el neurotransmisor de las de las fibras de la columna dorsal, excitadas por los estímulos táctiles, así como de las fibras corticofugales (Núñez y Buño 1999, 2001). En cambio, gran parte de las interneuronas de los NCD contienen los neurotransmisores GABA y/o glicina.

Para determinar su contribución a los mecanismos de facilitación e inhibición corticofugal, se aplicaron mediante iontoforesis antagonistas de los receptores glutamatérgicos del tipo NMDA y no-NMDA (APV y CNQX, respectivamente) y también de los receptores GABA_A (bicuculina), mayoritarios en los NCD.

Se registraron 6 neuronas del núcleo gracil con CRs coincidentes con el área cortical estimulada (4 neuronas tipo I y 2 neuronas tipo II). En estas 6 neuronas la estimulación cortical de SI provocó una facilitación de las respuestas sensoriales en condiciones control. Tras la aplicación por iontoforesis del antagonista APV en los NCD (50 mM), el tren cortical indujo una ligera facilitación de la respuesta táctil inmediatamente después de la estimulación pero revirtió antes de los 5 minutos; en cambio en condiciones control duró más de 5 minutos (Figura 17A). Además, se registraron 4 neuronas con CRs no coincidentes con el área cortical estimulada (3 neuronas tipo I y 1 neurona tipo II). Estas neuronas fueron inhibidas por la estimulación cortical como se describió anteriormente. La aplicación iontoforética de APV en los NCD también redujo la duración de la inhibición provocada por el estímulo cortical (Figura 17B).

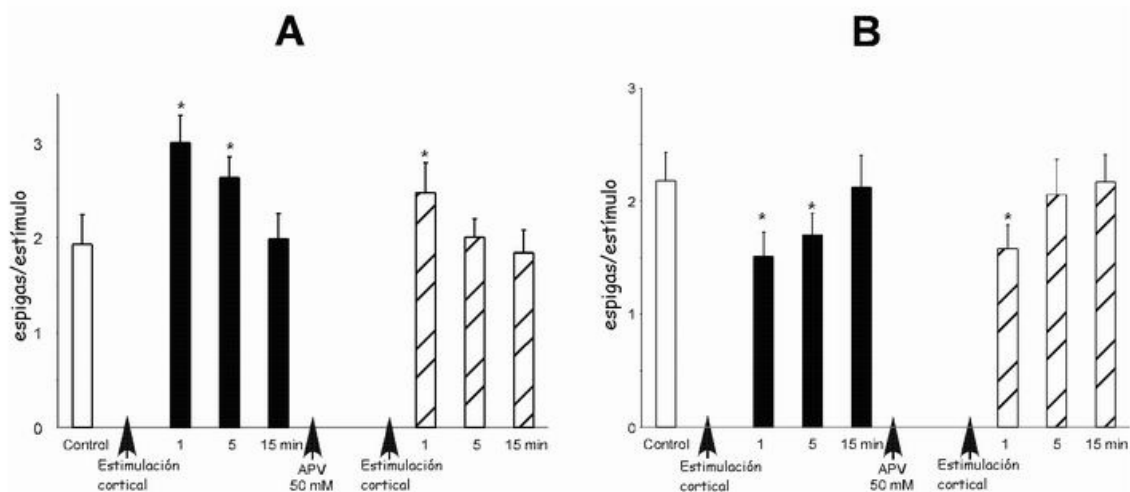


Figura 17.- El APV, antagonista de los receptores NMDA disminuyó la duración de la facilitación y de la inhibición provocadas por la estimulación cortical. (A) Gráfico de las respuestas táctiles medias evocadas en 6 neuronas del gracil con CRs coincidentes. La estimulación cortical produce un efecto facilitador duradero de las respuestas táctiles (más de 5 minutos). La aplicación iontoforética de APV (50 mM, 100-200 nA, pulso de 30 s) redujo tanto la amplitud como la duración del efecto facilitador de un nuevo tren de estímulos corticales. (B) Gráfico de las respuestas táctiles evocadas en 4 neuronas del gracil con CRs no coincidentes con el área cortical estimulada. Un tren de estímulos corticales indujo una inhibición duradera (más de 5 minutos) de las respuestas táctiles. Tras aplicar APV por iontoforesis (50 mM, 100-200 nA, pulso de 30 s), se redujo la duración de la inhibición provocada por un nuevo tren de estímulos corticales. La barra blanca indica el control, las barras negras la respuesta tras la estimulación cortical y las barras rayadas la actividad tras APV y nueva estimulación cortical.

La aplicación iontoforética de CNQX (1 mM) inhibió por completo las respuestas a estímulos táctiles así como las provocadas por la estimulación cortical en 2 neuronas tipo I y en 2 tipo II registradas en el núcleo gracil, confirmando que estas vías sinápticas de entrada a los NCD son glutamatérgicas.

Para determinar la participación de los receptores $GABA_A$ se registraron 7 neuronas (5 tipo I y 2 tipo II) que tenían CRs no coincidente con el área cortical estimulada. En condiciones control, sus respuestas táctiles fueron inhibidas por trenes de estimulación cortical (según lo descrito previamente). La aplicación por iontoforesis de bicuculina (20 mM) en los NCD hizo aumentar intensamente la frecuencia espontánea de descarga desde $2,1 \pm 0,15$ Hz en condiciones control, hasta $6,5 \pm 0,32$ Hz, después de la aplicación de bicuculina. Simultáneamente, las respuestas a la estimulación táctil también aumentaron desde $2,0 \pm 0,12$ espiigas/estímulo hasta $3,5 \pm 0,18$ espiigas/estímulo, después de la aplicación de bicuculina. En estas condiciones de bloqueo de la inhibición mediada por receptores

$GABA_A$ en los NCD, el tren de estimulación cortical no inhibió la respuesta a estímulos táctiles en las neuronas seleccionadas con CRs diferentes al área cortical estimulada (Figura 18). En cambio, en los casos con CRs coincidentes con el área cortical estimulada (neuronas tipo I, $n=4$), la estimulación cortical facilitó la respuesta a estímulos táctiles tanto en condiciones control como en presencia del antagonista bicuculina.

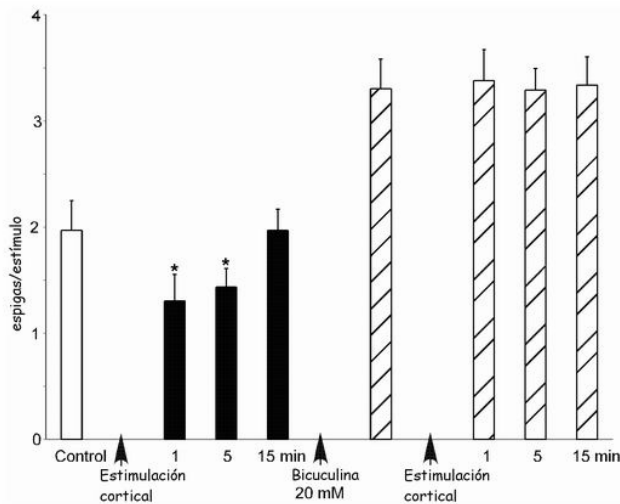


Figura 18.- La bicuculina, antagonista de los receptores de $GABA_A$, bloquea el efecto inhibitorio de la estimulación cortical. Gráfico de las respuestas evocadas en 7 neuronas del gracil con CRs no coincidentes con el área cortical estimulada. Un tren de estímulos corticales indujo una inhibición duradera (más de 5 y menos de 15 minutos) de las respuestas táctiles. Tras la aplicación iontoforética de bicuculina (20 mM, 100-200 nA, pulso de 30 s) las respuestas táctiles aumentaron. En presencia de bicuculina la estimulación cortical no inhibió las respuestas táctiles. La barra blanca indica el control, las barras negras la respuesta tras la estimulación cortical y las barras rayadas la actividad tras bicuculina y nueva estimulación cortical.

En conclusión, los fenómenos de facilitación cortical parecen mediados por receptores glutamatérgicos del tipo NMDA, en cambio, los procesos de inhibición cortical están mediados por receptores $GABA$ érgicos del tipo $GABA_A$.

10.- Influencia cortical en la respuesta táctil durante la estimulación dolorosa con formalina.

Los anteriores resultados sugieren que la corteza SI controla el flujo de información táctil en los NCD. Se ha demostrado también que la estimulación con estímulos nociceptivos provoca respuestas en las neuronas de los NCD (Costa y Núñez 2004). Por tanto, es posible que la corteza SI pueda ejercer un control similar al mostrado anteriormente cuando se estimulen las neuronas de los NCD con estímulos dolorosos.

Para evaluar el efecto que una estimulación dolorosa prolongada ejerce sobre las respuestas táctiles no dolorosas en las neuronas de los NCD, se administraron inyecciones de 7 μ l de formalina en el centro del CR de 33 neuronas, tanto del tipo I como del tipo II. Las respuestas al estímulo táctil se evaluaron antes y 2 minutos después de la inyección de formalina. Se cuantificaron las respuestas táctiles en el sitio de la inyección (P1) y en dos puntos progresivamente más alejados del punto de inyección (P2 y P3), todos ellos dentro del CR.

En el centro del CR (sitio de la inyección, P1) las neuronas disparaban $2,9 \pm 0,11$ espigas/estímulo antes de la inyección en respuesta a los estímulos táctiles. Después de la inyección de la formalina la respuesta se redujo en el punto de la inyección ($2,5 \pm 0,14$ espigas/estímulo; $p=0,007$; Figura 19).

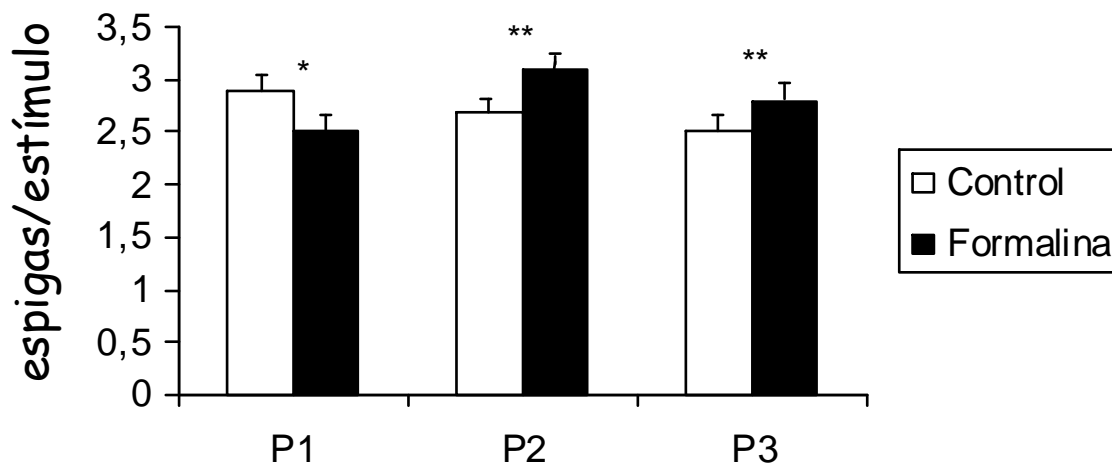


Figura 19.- Efecto de la inyección de formalina sobre las respuestas táctiles en neuronas del gracil. Las inyecciones se administraron en el centro del CR (P1), y se miró el efecto tanto en ese punto como en otros 2 puntos progresivamente más alejados del centro del CR (P2 y P3). En P1 se obtuvo una disminución significativa de la respuesta a la estimulación táctil, mientras que en P2 y en P3 se observó un aumento significativo. Las barras blancas indican el control, las barras negras la inyección de formalina ($n=33$; * $p<0,05$; ** $p<0,01$).

En cambio, los estímulos táctiles aplicados en la periferia del CR (sitios P2 y P3) aumentaron su respuesta. En el punto P2 del CR la respuesta pasó de $2,7 \pm 0,20$ espigas/estímulo a $3,1 \pm 0,16$ espigas/estímulo ($p=0,01$) y en el punto P3 de $2,5 \pm 0,13$ espigas/estímulo en control a $2,8 \pm 0,14$ espigas/estímulo durante la estimulación dolorosa ($p=0,02$; Figura 19). Además pudimos comprobar cómo algunas neuronas de los NCD respondían al estímulo táctil en zonas que eran silentes antes de la inyección de formalina, mostrando cómo el estímulo doloroso desenmascara CRs más grandes. La inyección de 7 μ l de suero salino en la piel no produjo cambios significativos en la respuesta de las neuronas de los NCD ($n=6$). Estos resultados indicaron que en el punto

de inyección de formalina en el CR provocaba un efecto hipoestésico de las respuestas táctiles en ese punto mientras que desenmascaraba un CR más amplio.

Para evaluar cuál es el papel de la corteza en la reorganización de CRs observada tras la inyección de formalina, se realizó una decorticación funcional con lidocaína al 2%, según lo descrito en *Materiales y Métodos*. Se localizó el CR de cada neurona del núcleo gracil y se midió la respuesta al estímulo táctil en situación control, después de la decorticación funcional y luego tras la inyección de formalina en el centro del CR (P1) y también en la periferia (P2), donde no se inyectó formalina.

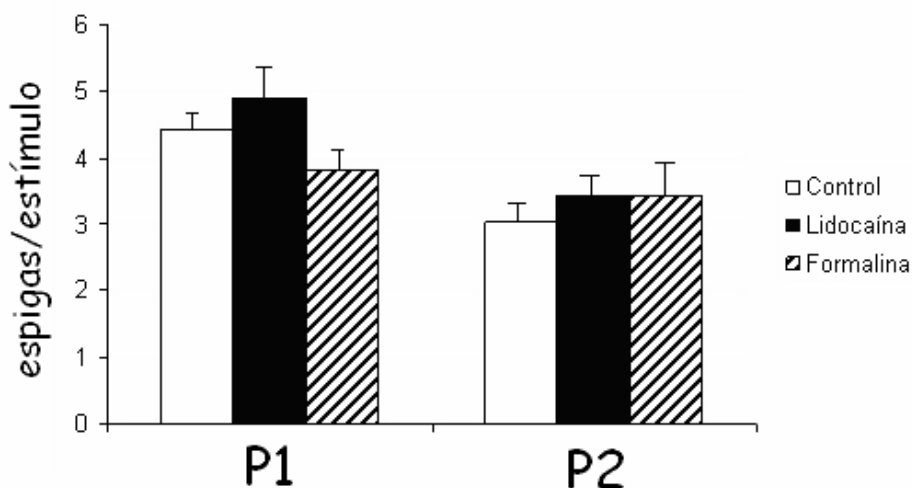


Figura 20.- Efecto de la inyección de formalina sobre las respuestas táctiles en neuronas del gracil cuando la actividad cortical está bloqueada con lidocaína. Las inyecciones se administraron en el centro del CR (P1) y también se estudió el efecto en otro punto de la periferia del CR (P2). Tras el bloqueo de la corteza con lidocaína se observó un aumento significativo de las respuestas táctiles en todas las neuronas estudiadas tanto en P1 como en P2. La inyección de formalina provocó un descenso significativo de la respuesta en P1, similar a lo observado con la corteza intacta. Sin embargo en P2 se detectó ningún cambio significativo (n=11). Las barras blancas indican el control, las barras negras la respuesta tras el bloqueo cortical con lidocaína y las barras rayadas la respuesta tras la inyección de formalina.

La lidocaína sobre la corteza produjo inmediatamente un aumento de la frecuencia espontánea de descarga en las neuronas de los NCD (n=11), como se indicó anteriormente (Figura 20). Este aumento de la actividad espontánea ocurrió simultáneamente con un aumento de las respuestas de estas neuronas a los estímulos táctiles tanto en el punto P1 del CR (de $4,4 \pm 0,23$ a $4,9 \pm 0,17$ espigas/estímulo; $p=0,02$) como en el punto P2 (de $3,0 \pm 0,19$ a $3,4 \pm 0,12$ espigas/estímulo; $p=0,04$). La inyección de formalina en

el punto P1 del CR después de bloquear la corteza SI con lidocaína (n=11) también redujo las respuestas al estímulo táctil sobre P1 (de $4,9\pm 0,17$ a $3,8\pm 0,19$ espigas/estímulo; $p= 0,007$). Sin embargo, las respuestas táctiles sobre el punto P2, situado en la periferia del CR, no se modificó significativamente (de $3,4\pm 0,12$ a $3,4\pm 0,19$ espigas/estímulo). Por tanto, para que se produzca la reorganización de los CR parece necesaria la integridad de la corteza cerebral.

También se evaluó el efecto de la estimulación eléctrica de la corteza SI (tren de estímulos de 0,3 ms de duración a 50 Hz durante 500 ms) sobre la respuesta a estímulos táctiles tras la inyección de formalina en el centro del CR (P1) y en un punto de la periferia del CR (P2), en 20 neuronas. Tras la inyección de formalina en el punto P1, la respuesta táctil se redujo en P1 de $2,8\pm 0,11$ a $2,6\pm 0,08$ respuestas/estímulo ($p= 0,009$), y en P2 aumentó de $2,5\pm 0,12$ a $2,8\pm 0,15$ respuestas/estímulo ($p= 0,01$). La aplicación de un tren de estímulos corticales en el área cortical correspondiente al punto P1 del CR de la neurona, incrementó la respuesta táctil alcanzándose los valores que se obtenían en condiciones control ($2,8\pm 0,14$ respuestas/estímulo; $p=0,007$). Las respuestas táctiles procedentes del punto P2 en la periferia del CR disminuyeron también hasta los niveles anteriores a la inyección de lidocaína ($2,67\pm 0,13$ respuestas/estímulo; $p= 0,04$; Figura 21). Por tanto, la estimulación cortical revirtió los cambios provocados por la inyección de formalina en el CR.

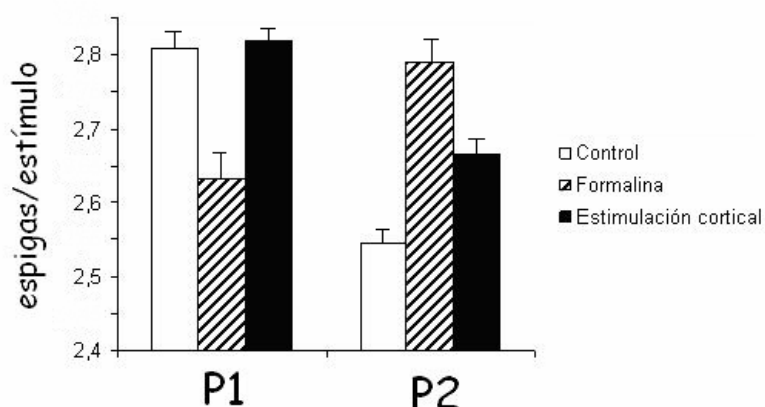


Figura 21.- Efecto de la estimulación cortical sobre las respuestas táctiles en neuronas del gracil cuando se ha inyectado formalina. Tras inyectar formalina en el centro de los CRs de las neuronas (P1) se observó una disminución de la respuesta en ese punto ($p=0,009$) y un aumento de la respuesta en P2 ($p=0,01$). Tras un tren de estímulos eléctricos en la corteza SI (0,3 ms a 100 Hz y 500 ms) en un área cortical con CR coincidente con la neurona del gracil se observó un incremento de la respuesta en P1 ($p= p=0,007$) y un descenso en P2 ($p= 0,04$; $n=20$).

Estos datos demuestran que la corteza SI puede modular las respuestas de las neuronas del núcleo gracil a estímulos táctiles asociados a estímulos nociceptivos, de la misma forma que lo hace con estímulos inocuos.

DISCUSIÓN

Los resultados presentados en esta Tesis Doctoral han sido obtenidos mayoritariamente de la actividad de las neuronas del núcleo gracil. Sin embargo, como se ha comprobado que en los registros de las neuronas del núcleo cuneatus los resultados son superponibles por lo que en la siguiente discusión nos referiremos de forma conjunta como NCD.

1.- Caracterización electrofisiológica de las neuronas de los NCD

Los datos presentados en esta Tesis Doctoral ratifican la existencia de dos tipos diferentes de neuronas en los NCD, que presentaron propiedades electrofisiológicas distintas. Las neuronas tipo I, con una frecuencia de descarga espontánea inferior a 5 Hz y un patrón de descarga arrítmico, y las neuronas tipo II, con una frecuencia de descarga espontánea superiores a los 10 Hz y, sobretodo, con una actividad claramente rítmica (Panetsos et al. 1997, 1998; Núñez et al. 2000). Las neuronas tipo I presentaron también actividad rítmica cuando se estimuló su CR (Panetsos et al. 1998; Núñez et al. 2000). La actividad rítmica que presentan espontáneamente las neuronas tipo II o la que presentan las neuronas tipo I durante la estimulación sensorial puede ser debida a la activación de diferentes corrientes iónicas demostradas *in vitro* (Núñez y Buño 1999) o a la presencia de oscilaciones subumbrales, como ha sido demostrado en cultivos de células de los NCD (Reboreda et al. 2003). Estudios previos en el núcleo cuneatus del mapache o en la rata demostraron un rango de frecuencias similar a las neuronas registradas en este trabajo (Pubols et al. 1989, Alloway et al. 1994).

La estimulación del lemnisco medio provocó espigas antidrómicas en más de la mitad de las neuronas tipo I que fueron estudiadas en esta Tesis Doctoral y en ningún caso en las neuronas tipo II. La latencia promedio fue de 2,1 ms, ligeramente mayor que la publicada por otros autores anteriormente (1,5 ms; Davidson y Smith 1972) pero desde un lugar de estimulación más lejano que el que se utilizó en este estudio. Por tanto, las neuronas tipo I deben ser neuronas de proyección, muy probablemente hacia el tálamo, mientras que las neuronas tipo II deben ser interneuronas, como también ha sido sugerido en trabajos anteriores de este grupo (Panetsos et al. 1997, 1998; Núñez et al. 2000, Costa y Núñez 2004). De acuerdo con esta identificación, el registro de fibras del lemnisco medio reveló que su forma de descarga es similar a la forma de descarga de las células tipo I, es decir, descargas arrítmicas a baja frecuencia. En cambio, no se observó

ninguna fibra con actividad rítmica en condiciones espontáneas en los registros del lemnisco medio (Panetsos et al. 1997).

Los estudios anatómicos también demuestran la existencia de dos poblaciones neuronales. Una población más numerosa de células grandes que proyectan hacia el núcleo ventral posterolateral del tálamo contralateral (Valverde 1966; Tan y Lieberman 1978; Fyfee et al. 1986a; Ellis y Rustioni 1981). La otra población más heterogénea que está formada por interneuronas que contienen GABA y/o glicina (Blomqvist y Westman 1976; Babaresi et al. 1986; Henio y Westman 1991; Lue et al. 1994;; Popratiloff et al. 1996).

Popratiloff y colaboradores (1997) demostraron que en los NCD se expresan subunidades GluR1, GluR2 y GluR3 de receptores AMPA. Además, las neuronas de los NCD que expresan subunidades GluR2 y GluR3 son neuronas grandes que proyectan mayoritariamente al tálamo mientras que las neuronas que expresan subunidades GluR1 y/o GluR2 son neuronas pequeñas de proyección local (Popratiloff et al. 1997). En general la presencia conjunta de receptores es una característica de las células glutamatérgicas de proyección, mientras que la presencia del receptor GluR1 y la ausencia de GluR2 y GluR3 parece ser una característica común de las neuronas GABAérgicas y de proyección local (Martin et al. 1993, Leranath et al. 1996).

Por tanto, las células de tipo I, identificadas en el presente estudio, podrían corresponder a las células grandes glutamatérgicas que proyectan al tálamo debido a su activación antidrómica desde el lemnisco medial y porque registros en el lemnisco medial presentan una forma de descarga de las fibras similar a la forma de descarga de las neuronas tipo I. En cambio, la identificación de las células tipo II es más imprecisa. Por ejemplo, es posible que las neuronas tipo II puedan ser interneuronas inhibitorias o neuronas de proyección a otras regiones del SNC. Los NCD proyectan a regiones extratalámicas como los colículos superior e inferior, núcleo intercolicular, núcleo rojo, cerebelo, médula espinal (Cajal 1909; Berkley et al. 1986; Tracey y Waite 1995; Waite y Tracey 1995; Li y Mizuno 1997). En la rata la mayoría de las neuronas de proyección mandan sus axones por el lemnisco medial, aunque una gran parte de ellos deja colaterales que se dirigen a otras regiones o incluso vuelven a entrar en los mismos NCD (Valverde 1966).

Los estudios electrofisiológicos *in vitro*, realizados en rodajas de los NCD también muestran la existencia de dos tipos de neuronas que se

diferenciaron fundamentalmente por la presencia de una corriente iónica de Na^+ y K^+ , denominada I_Q (Núñez y Buño 1999, 2001). En este trabajo además de la caracterización electrofisiológica, las neuronas que con la corriente I_Q fueron también diferenciadas morfológicamente ya que su axón salía del núcleo hacia el lemnisco medio, como pudo observarse tras inyectar intracelularmente el trazador fluorescente carboxifluoresceína.

La inmensa mayoría de las neuronas presentaron una respuesta fásica a la estimulación táctil de larga duración. Solamente se observó una respuesta fásico-tónica en las neuronas tipo II, las cuales mostraron una descarga inicial al comienzo del estímulo y mantuvieron elevada su descarga durante todo el tiempo que duró el estímulo táctil.

2.- Estimulación cortical

Nuestros resultados demuestran que la estimulación de la corteza SI induce una respuesta ortodrómica tanto en las neuronas tipo I como tipo II. Estos resultados están de acuerdo con los estudios anatómicos que se han realizado previamente que indican la existencia de una importante proyección corticofugal hasta los NCD a través de la vía piramidal (Martínez et al. 1995) y que esta proyección cortical realiza sinapsis tanto en las neuronas de proyección hacia el tálamo como con las interneuronas de los NCD (Weisberg et al. 1976; Weisberg et al., 1979). En ningún caso se observaron respuestas antidrómicas provocadas por la estimulación de la corteza SI, indicando que no existen proyecciones directas desde las neuronas de los NCD a la corteza SI.

Estas respuestas ortodrómicas también han sido descritas en gatos (Canedo et al., 1998). Además, se observa que su influencia sobre la actividad de las neuronas de los NCD es muy importante ya que impone determinadas actividades rítmicas corticales sobre la actividad de las neuronas de los NCD. Así, se pueden registrar actividades rítmicas a la frecuencia de las ondas delta corticales, husos de sueño o actividades epileptiformes generados en la corteza cerebral (Mariño et al. 2000).

La respuesta a la estimulación cortical fue siempre mayor en aquellas neuronas de los NCD con CR similar al área cortical estimulada. En cambio, cuando los CRs son diferentes la activación fue mucho menor. Por tanto, los resultados indican que existe una proyección corticofugal muy precisa y definida topográficamente entre las neuronas corticales y las neuronas de

los NCD, que contacta neuronas con el mismo CR (Weisberg y Rustioni, 1976; Martínez-Lorenzana et al. 2001). Estos resultados coinciden con los presentados por Cole y Gordon en 1992, que describen cómo la estimulación cortical tenía un umbral de respuesta en el gracil mucho más bajo cuando situaban el electrodo en áreas de corteza SI de la pata posterior, y el umbral aumentaba según alejaban el electrodo de esta zona de corteza SI.

Es posible especular que esta proyección topográfica se define durante el desarrollo en el que sinapsis corticofugales se podrían mantener entre neuronas que son activadas simultáneamente (neuronas de los NCD y de la corteza SI que son activadas por un estímulo en el mismo CR), en cambio aquellas proyecciones desde la corteza que hicieran sinapsis con neuronas de los NCD con un CR diferente se perderían durante el desarrollo.

Esta hipótesis estaría avalada por los procesos de remodelación sináptica que ocurren fundamentalmente durante el desarrollo. La pérdida de contactos sinápticos inapropiados es un proceso conocido como remodelación sináptica que depende de la actividad eléctrica de la terminal axónica. Esta remodelación sináptica durante el desarrollo es bloqueada por la infusión de tetratoxina, que bloquea la generación y propagación del potencial de acción (Shatz y Stryker 1988; Stretavan et al. 1988). La acción de la actividad eléctrica implica que, dependiendo de las características de la actividad neuronal, algunas sinapsis van a ser reforzadas mientras que otras van a desaparecer (Meister et al. 1991). Por tanto, es lógico pensar que en un primer momento la proyección corticofugal fuera muy extensa sobre los NCD haciendo numerosas sinapsis de forma indiscriminada tanto con neuronas de los NCD con el mismo CR o con diferente CR. Sin embargo, durante el desarrollo cuando aparecen los estímulos somestésicos sobre el CR, la activación de determinadas neuronas en los NCD y en la corteza SI puede que establezca las sinapsis procedentes de las neuronas que también se han activado en la corteza SI y, en cambio, las sinapsis procedentes de otras neuronas que no se han activado simultáneamente podrían desaparecer.

Numerosos estudios han determinado que las proyecciones de las fibras de la columna dorsal y las fibras corticofugales tienen como neurotransmisor el glutamato (Rustioni y Cuénod 1982; Conti et al. 1989; Banna y Jabbur 1989; Broman 1994; DeBiasi et al. 1994). Además, se han identificado mediante estudios histológicos la existencia de receptores del tipo NMDA y subunidades GluR1, GluR2 y GluR3 de receptores AMPA en los NCD (Watanabe et al. 1994; Kus et al. 1995; Popratiloff et al. 1997). Por tanto,

los efectos de la estimulación cortical sobre las neuronas de los NCD se deben a la activación de receptores glutamatérgicos. La aplicación de CNQX, antagonista de los receptores AMPA, bloqueó las respuestas ortodrómicas provocadas en las neuronas de los NCD por la estimulación de la corteza SI, mientras que la aplicación iontoforética de APV, antagonista de receptores NMDA, redujo la respuesta a la estimulación cortical.

Estudios electrofisiológicos de las neuronas de los NCD *in vitro* demuestran que la activación de fibras de la columna dorsal provoca un EPSP glutamatérgico mediante la activación de receptores AMPA, sin implicar los receptores NMDA; en cambio la activación de las fibras corticofugales provoca también un EPSP glutamatérgico, pero este es debido a la activación de receptores tanto no-NMDA como NMDA (Núñez y Buño 1999, 2001).

La respuesta ortodrómica en las neuronas de los NCD a la estimulación eléctrica cortical se ve incrementada tras aplicar un tren de estímulos corticales ya que provoca la facilitación de sus propias respuestas durante al menos 5 minutos. Este efecto de facilitación homosináptica se produce únicamente cuando los CRs coinciden porque en este caso las proyecciones desde la corteza SI contactan ha estas neuronas. La facilitación homosináptica provocada por la estimulación cortical ha sido demostrada, igualmente, en registros *in vitro* (Núñez y Buño 1999, 2001). Las fibras corticofugales activan receptores no-NMDA y NMDA, simultáneamente. Su estimulación provoca facilitación homosináptica y facilitación heterosináptica de la aferencia a través de las fibras de la columna dorsal. Este efecto se debe a la activación de los receptores NMDA que provocan un aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular (Núñez y Buño 2001). Es posible que este sea el mecanismo que explica estos procesos de facilitación a corto plazo; la estimulación con un tren de estímulos en la corteza SI, facilita sus propias respuestas sinápticas durante al menos 5 minutos.

En cambio, la estimulación táctil en forma de trenes a una frecuencia de 10 Hz no alteró las respuestas a la estimulación eléctrica cortical ni a sus propias respuestas táctiles. Este efecto se debe a que la estimulación de las fibras de la columna dorsal solo activa a receptores AMPA, por lo que no se produce una facilitación a corto plazo, aunque su neurotransmisor también sea el glutamato (Núñez y Buño 1999, 2001).

3.- Efecto de la estimulación cortical sobre las respuestas táctiles

Distintos estudios han mostrado que la corteza motora y la somestésica primaria pueden activar o inhibir la actividad de los NCD (Towe y Jabbur, 1961; Gordon y Jukes, 1964; Lewitt et al., 1964; Cheema et al., 1983; Canedo y Aguilar 2000; Mariño et al., 2000). La estimulación cortical provoca la generación de EPSPs e IPSPs en las neuronas de los NCD registradas en animales anestesiados (Schwartzkroin et al. 1974, Canedo y Aguilar 2000, Mariño et al. 2000). Sin embargo, no se conocía la razón por la cual la estimulación cortical en unos casos producía inhibición y en otros casos activación de las neuronas de los NCD.

Los resultados presentados en esta Tesis Doctoral demuestran que la corteza SI facilita las respuestas sensoriales cuando los CRs del área cortical y de la neurona del NCD se solapan. Un tren de estímulos en la corteza SI provocó el aumento de la actividad espontánea de las neuronas tipo I de los NCD, pero no en las neuronas tipo II. Además, facilitó la respuesta a sus propios estímulos corticales (facilitación homosináptica) y a los estímulos táctiles que se producían en el CR de las neuronas tipo I y tipo II (facilitación heterosináptica). Esta facilitación cortical duró en todos los casos menos de 15 minutos por lo que no podemos considerarla como una potenciación a largo plazo.

Un único estímulo cortical también provocó la facilitación de las respuestas táctiles durante un cierto tiempo. El estímulo en la corteza SI con un CR similar a la neurona de los NCD indujo la facilitación de las respuestas "ON-OFF" cuando se aplicaron estímulos táctiles de 200 ms de duración. Es decir, un único estímulo cortical provocó cambios en la neurona de los NCD suficientemente duraderos en el tiempo como para facilitar tanto la respuesta "ON" como la respuesta "OFF" que ocurría 200 ms más tarde.

Este efecto de facilitación sináptica de la corteza SI de las respuestas de las neuronas de los NCD ha sido estudiado *in vitro* en rodajas que contenían estos núcleos. La estimulación de las fibras corticofugales genera un EPSP en las neuronas de los NCD mediante la activación de receptores no-NMDA y NMDA (Núñez y Buño 1998). La activación de los receptores del tipo NMDA le confiere la propiedad de provocar cambios intracelulares que facilitan las respuestas sinápticas que ocurren después de la estimulación cortical (durante 50 ms; Núñez y Buño 1998, 2001). Por tanto, se genera una ventana temporal en la cual tanto los EPSPs generados por la estimulación de las fibras corticofugales como los EPSPs generados por la estimulación

de las fibras de la columna dorsal fueron facilitados (facilitación homosináptica y heterosináptica). Este efecto puede deberse a la entrada de Ca^{2+} que se produce al activar el receptor de NMDA ya que la inyección de pulsos despolarizantes que generan potenciales de acción en las neuronas de los NCD provocan también la facilitación sináptica muy probablemente debido a la entrada de Ca^{2+} que se produce durante la despolarización y la generación de potenciales de acción (Núñez y Buño 2001). Por tanto, las fibras corticofugales ejercerían una facilitación sináptica a través de la activación de los receptores NMDA, como también ocurre en muchos tipos de potenciación sináptica (Ej. Bear y Malenka 1994; Castro-Alamancos et al., 1995).

Estos mecanismos demostrados en un preparado *in vitro* también han sido demostrados en los animales anestesiados que han sido estudiados en esta Tesis Doctoral. La aplicación iontoforética de APV, antagonista de los receptores de glutamato NMDA, en los NCD no modificó sustancialmente las respuestas a estímulos táctiles pero si abolió la facilitación corticofugal provocada por la estimulación de la corteza SI con un CR similar a la neurona registrada en los NCD. La aplicación de CNQX abolió todo tipo de respuesta cortical y táctil en los NCD. Como cabría esperar ya que ambas entradas sinápticas son glutamatérgicas.

La estimulación repetitiva táctil a 10 Hz no provoca ningún fenómeno de facilitación homosináptica o heterosináptica ya que como se ha demostrado *in vitro* no activa receptores NMDA y por tanto no tiene la posibilidad de generar fenómenos de facilitación. En resumen, los estímulos periféricos y corticales provocan respuestas en las neuronas de los NCD a través de receptores glutamatérgicos no-NMDA, sin embargo la facilitación sináptica se produce a través de receptores del glutamato tipo NMDA que están presentes sólo en las aferencias corticales y no en las periféricas.

Además de la facilitación corticofugal mediada por activación de receptores NMDA, nuestros resultados sugieren que la facilitación corticofugal implica un mecanismo circuital que provocaría la desinhibición de las neuronas de proyección talámica de los NCD. La estimulación con pares de estímulos táctiles demuestra que a intervalos cortos, menores de 100 ms, el segundo estímulo táctil esta disminuido debido a la acción de las interneuronas inhibitorias que se encuentran en los NCD (Babaresi et al. 1986; Henio y Westman 1991; Lue et al. 1994; Blomqvist y Westman 1976; Popratiloff et al. 1996; Panetsos et al. 1997). Esta inhibición generada por un circuito local fue disminuida cuando se estimuló la corteza SI con un tren de pulsos en un

área con un CR coincidente con el de la neurona registrada. Puesto que la proyección cortical es excitatoria mediante la activación de receptores glutamatérgicos (Rustioni y Cuénod 1982; Conti et al. 1989, Banna y Jabbur 1989; Broman 1994; DeBiasi et al. 1994), esta inhibición de las interneuronas inhibitorias debe ser el resultado de la activación de otro tipo de interneuronas presentes en los NCD. Aguilar et al. (2003) propusieron que las neuronas GABAérgicas podrían estar controladas por la actividad de las neuronas glicinérgicas en los NCD y sugirieron que la activación cortical de las neuronas glicinérgicas podría inhibir a las GABAérgicas. Esta propuesta explicaría nuestros resultados. Por todo ello, la corteza SI podría facilitar las respuestas táctiles mediante la activación de receptores NMDA y no NMDA y mediante un mecanismo circuital que implicaría la desinhibición de las neuronas de los NCD de proyección talámica, a través de la activación de interneuronas glicinérgicas que inhibirían a las neuronas GABAérgicas de los NCD (Aguilar et al., 2003).

Si los CRs no coinciden, la estimulación cortical no facilita, e incluso inhibe la respuesta en los NCD a estímulos táctiles en la mayoría de los casos. Este efecto se debe a la activación de interneuronas inhibitorias ya que se bloquea si previamente se ha inyectado el antagonista de receptores GABA_A, bicuculina, en los NCD. La inhibición inducida por la corteza se debe sobre todo, sino únicamente, a la activación de interneuronas GABAérgicas, ya que la proyección cortical es glutamatérgica y no existe ninguna otra entrada extrínseca de GABA a los NCD (Barberesi et al., 1986). Sin embargo, no podemos descartar que las interneuronas glicinérgicas de los NCD puedan también contribuir a la inhibición provocada por la estimulación de la corteza SI cuando los CRs son diferentes.

Cuando el estímulo cortical se aplicó en forma de trenes de estímulos de 500ms de duración, el efecto excitador o inhibitorio que ocurre en las neuronas de los NCD, según la coincidencia o no de los CRs, se mantuvo más de 5 minutos en condiciones control pero fueron reducidos a menos de 5 minutos cuando se aplicó APV en los NCD. Por tanto, las neuronas de proyección como las interneuronas inhibitorias en los NCD deben tener receptores de tipo NMDA cuya estimulación provoca una facilitación o una inhibición que perdura más tiempo que la propia duración del tren de estímulos. La existencia de respuestas mediadas por la activación de receptores del tipo NMDA ha sido caracterizada en las neuronas de proyección mediante registros *in vitro* (Núñez y Buño 1999). Sin embargo, no se conoce si las interneuronas inhibitorias de los NCD también presentan este tipo de respuestas. Como se indicó anteriormente, las neuronas tipo II

podrían ser interneuronas ya que ni en este trabajo de investigación ni en trabajos previos se han podido identificar antidrómicamente mediante estímulos en el lemnisco medial. Estas neuronas fueron afectadas por la inyección iontoforética de APV de la misma forma que las neuronas tipo I identificadas como neuronas de proyección talámica, por tanto, estos datos sugieren que ambos tipos neuronales de los NCD tienen receptores glutamatérgicos del tipo NMDA que les permiten modular la respuesta a estímulos táctiles durante un tiempo más prolongado que la duración del estímulo cortical.

4.- Control cortical de las respuestas táctiles en los NCD

Los resultados muestran que la corteza SI realiza un control muy preciso de las respuestas de los NCD, primera estación de relevo de la vía somestésica. El efecto de la corteza SI sería la facilitación de determinados estímulos que considera relevantes e inhibiría las respuestas a otros estímulos que consideraría irrelevantes.

Estos efectos moduladores corticales también han sido demostrados en la vía auditiva y en la vía visual. La estimulación eléctrica de la corteza auditiva facilita las respuestas auditivas en todas las estaciones de relevo de la vía auditiva cuando los CRs (frecuencia del sonido) son similares e inhibe las neuronas de la vía auditiva con CRs diferentes al área cortical auditiva estimulada (Sun et al. 1989; Torterolo et al. 1998; Yan y Suga 1998; Yan y Ehret 2002; Yu et al. 2004). La proyección corticofugal desde la corteza cerebral provoca cambios muy importantes en el procesamiento de la información auditiva en el núcleo geniculado medial, colículo inferior, complejo olivar e incluso a nivel del núcleo coclear permitiendo el filtrado de determinados estímulos (Diamond et al. 1992), el enfoque del CR (Villa et al. 1991) y la modulación a largo plazo de la respuesta auditiva (Ma y Suga 2001). Estos mecanismos de facilitación e inhibición corticofugales también se han descrito en el núcleo geniculado lateral mediante la estimulación de la corteza visual (Murphy y Sillito 1987; Cudeiro y Sillito 1996; Marroco et al. 1996).

La facilitación de estímulos relevantes por parte de la corteza cerebral y la disminución de las respuestas a otros estímulos se ha definido como "selección egocéntrica" (Jen et al. 2002). Este efecto se ha estudiado en profundidad en las respuestas auditivas del murciélago (Suga 1984) pero también se ha observado en mamíferos e incluso en el hombre (Khalfa et al.

2001) y en todos los sistemas sensoriales. Por tanto, la selección egocéntrica puede ser una propiedad general de la proyección corticofugal. Esta función de modulación cortical sólo es concebible si existe una proyección corticofugal perfectamente organizada topográficamente entre las áreas corticales sensoriales y las estaciones de relevo subcortical de su misma modalidad sensorial. Resulta lógico pensar que esta capacidad de enfoque fino de la vía corticofugal en los NCD debe tener un significado funcional en los procesos de atención y de discriminación espacial. La modulación corticofugal puede considerarse como un mecanismo atencional que aumenta la capacidad discriminativa del sistema somestésico. La durabilidad del efecto hace presuponer que este mecanismo podría estar relacionado con los fenómenos de aprendizaje táctil y con el incremento de las capacidades discriminativas.

Los resultados presentados en esta Tesis Doctoral además indican que los mecanismos de facilitación cortical son procesos reversibles. Aunque la estimulación de la corteza SI provoca cambios en la respuestas táctiles de los NCD que duran varios minutos, esta facilitación es revertida si se estimula otra área de la corteza SI con un CR diferente. Posiblemente, la inhibición que provoca la estimulación cortical puede bloquear los fenómenos de facilitación que se han producido anteriormente. Esto confiere a la proyección corticofugal unas propiedades de plasticidad sináptica que le permite facilitar las respuestas que considere más relevantes en cada momento.

La corteza, en definitiva, incrementa la recepción de la sensación somestésica en un punto determinado de su CR y disminuye las respuestas a estímulos que ocurren a su alrededor. Por tanto, puede modular el tamaño del CR ya que, como queda reflejado en la Figura 12, la estimulación cortical llega a hacer desaparecer la respuesta en la periferia del CR original con la consiguiente disminución de tamaño del mismo. Esto permite enfocar las respuestas neuronales de los NCD a los estímulos que ocurren en el centro funcional de su CR. Refuerza el centro funcional e inhibe el área de alrededor, aumentando el contraste centro-periferia y mejorando la capacidad perceptiva del sistema somatosensorial. Esta mejora podría hacer que la percepción táctil sea más discriminativa.

Mapas topográficos representando los CRs pueden encontrarse en la corteza cerebral y en las estaciones de relevo de las vías sensoriales. Estos CRs cambian dependiendo de lo que ocurre en el mundo exterior como por ejemplo la deprivación sensorial, la lesión y la experiencia previa, incluso en

animales adultos (King 1977; Buonomano y Merzenich 1998). Se considera que la reorganización de los CRs se produce por un incremento de la eficacia de entradas sinápticas débiles o remotas en el árbol dendrítico (Merzenich et al. 1984; Jablonska et al. 1995). Concretamente, en los NCD los CRs cambian cuando se produce la anestesia temporal de un CR mediante la inyección de lidocaína (Pettit y Schwark 1993; Panetsos et al. 1996, 1997). La reorganización de los CRs ocurre en los NCD y simultáneamente en la corteza SI (Panetsos et al. 1995), por tanto, estos cambios en los CRs corticales van a influir en la actividad de la vía corticofugal y podrían contribuir igualmente a la reorganización de los CRs en las estaciones de relevo subcorticales. La expansión del tamaño de los CRs es un fenómeno ampliamente descrito en las neuronas de los NCD tras la desafrentización periférica. Aunque se ha sugerido que los NCD tienen capacidad intrínseca para expresar nuevos CRs (Pettit y Schwark, 1993; Panetsos et al., 1996, 1997), la corteza SI podría contribuir a determinar el tamaño del CR y disminuir los nuevos CRs surgidos tras cambios en las aferencias periféricas. Esta propiedad de la corteza de modificar y regular la transmisión de la información periférica, podría estar involucrada en la capacidad de adaptación del sistema somestésico según el uso que se haga de él, sobre todo en la plasticidad a corto plazo y podría ser un elemento fundamental en el aprendizaje de tareas somatosensoriales y motoras.

Se ha descrito un control corticofugal similar al descrito en la presente Tesis Doctoral desde la corteza motora. Los resultados indican que la activación de una determinada área motora cortical que induzca un movimiento en una determinada articulación, facilita selectivamente las respuestas somatosensoriales en neuronas de los NCD que reciben información del área anatómica correspondiente a dicha articulación (Giufreda et al., 1985; Palmeri et al., 1999). Este mecanismo de facilitación parece similar al de nuestro estudio y podría estar mediado también por receptores glutamatérgicos tipo NMDA, ya que la facilitación evocada por la corteza motora se reduce cuando se utiliza ketamina para anestesiarse las ratas, que bloquea los receptores NMDA (Giufreda et al., 1985).

Diferentes trabajos han demostrado que los NCD pueden participar en la sensación dolorosa. Las neuronas de los NCD responden a estímulos nociceptivos cutáneos o viscerales (Cliffer et al. 1992, Al-Chaer et al. 1996, Ferrington et al. 1998) y lesiones de los nervios periféricos provocan cambios en su actividad (Miki et al. 1998b, Schwark y Ilyinsky 2001). Recientemente, Costa y Núñez (2004) describieron cambios en la respuesta de las neuronas de los NCD a estímulos táctiles cuando se aplicaron sobre la

piel en la que previamente se había aplicado un estímulo doloroso como la inyección subcutánea de formalina. Estos autores demostraron que en el sitio donde se inyectó la formalina se producía una disminución de la respuesta a estímulos táctiles (hipoestesia) mientras que estímulos aplicados fuera del sitio de la inyección aumentaban su respuesta e incluso el estímulo doloroso desenmascaraba un CR de mayor extensión. Por tanto, la actividad neuronal de los NCD podría contribuir en el procesamiento de la información nociceptiva y a la reorganización de los CRs que ocurren durante este tipo de estimulación, como por ejemplo durante la alodinia (Costa y Núñez 2004).

Los resultados demuestran que la corteza SI también ejerce un control sobre estos estímulos nociceptivos. La hipoestesia del punto de la inyección de formalina no fue afectada por el bloqueo de la corteza SI sugiriendo que este efecto hipoestesia no se genera por la actividad cortical. En cambio, la reorganización de los CRs si disminuyó cuando se bloqueó la corteza SI con lidocaína, sugiriendo que las proyecciones corticofugales pueden jugar un papel muy importante en la reorganización de los CRs. Estos datos contradicen resultados previos de Panetsos et al. (1995) en la que demuestran que la reorganización de los CRs después de la desaferentización periférica puede ocurrir en los NCD de forma independiente de la corteza SI. Esto puede deberse a que en nuestros experimentos la reorganización no se produce por desaferentización sino por la estimulación de aferencias dolorosas.

5.- Control cortical de la actividad oscilatoria de las neuronas de los NCD

Numerosas estructuras del SNC muestran una actividad oscilatoria en diferentes condiciones, cubriendo un amplio rango de frecuencias (Singer 1993, Steriade 1993). Estas actividades oscilatorias se generan por la combinación de propiedades electrofisiológicas intrínsecas de las neuronas y por las interacciones sinápticas dentro de una red neuronal. En la mayoría de los casos se sugiere que la actividad oscilatoria contribuye a la sincronización de diferentes neuronas y, por tanto, aumenta la sumación espacial y temporal en las mismas (Steriade et al. 1993, Singer y Gray 1995, Núñez y Amzica 2004).

La contribución de la actividad oscilatoria en el procesamiento de la información somatosensorial ha sido sugerida a todos los niveles de la vía somestésica (Amassian y Gliblin 1974, Murthy y Fetz 1992, 1996, Panetsos

et al. 1998, Núñez et al. 2000). En el sistema trigeminal una actividad a 7-12 Hz aparece tanto en los núcleos del trigémino como en el tálamo y la corteza SI durante estados de inmovilidad atenta y precediendo el movimiento de las vibrisas (Nicoletis et al. 1995).

En los NCD también se han descrito actividades rítmicas en el rango de las frecuencias delta o a frecuencias más altas tanto en neuronas de proyección talámica como en posibles interneuronas (Amassian y Giblin 1974, Mariño et al. 1996, 1999, Panetsos et al. 1998, Núñez et al. 2000). Las neuronas de proyección del tipo tipo I muestran actividad oscilatoria durante la estimulación de su CR, en cambio, las posibles interneuronas tipo II presentan una actividad rítmica tanto en condiciones espontáneas como durante la estimulación del CR (Panetsos et al. 1998, Núñez et al. 2000, resultados presentados en esta Tesis Doctoral). Estas oscilaciones permiten sincronizar neuronas con el mismo CR por lo que su eficacia sináptica sobre las neuronas talámicas va a ser mucho mayor.

Las proyecciones corticofugales también facilitan la oscilación de las neuronas de los NCD. La estimulación de la corteza SI en un área con un CR similar al de las neuronas de los NCD facilita su actividad rítmica, tanto a las neuronas tipo I durante la estimulación táctil como a las neuronas tipo II. Por tanto, la proyección corticofugal también contribuye a la sincronización de las neuronas de los NCD con un CR común facilitando la transmisión del estímulo táctil desde la periferia hacia el tálamo.

6.- Consideraciones funcionales

La plasticidad sináptica es una respuesta adaptativa de la neurona. Dependiendo de la forma temporal en que ocurren los estímulos presinápticos, la célula postsináptica decidirá como va a ser su respuesta. La integración de estímulos separados dentro de una ventana temporal estrecha es como se define un detector de coincidencia (Roy y Alloway 2001). Numerosos trabajos han demostrado la importancia de los detectores de coincidencia en el procesamiento de la información (Mooney et al. 1996, Rudolf y Destexhe 2003, Schaafer et al. 2003, Perez-Orive et al. 2004, Karmarkar y Dan 2005) o en el aprendizaje y en los procesos de memoria (Tang et al. 1999, Tsien 2000, Christodoulou et al. 2002), tanto durante el desarrollo como en animales adultos. Los detectores de coincidencia se han descrito tanto a nivel molecular como a nivel de circuitos neuronales y en todos los casos permiten asociar diferentes

estímulos para dar una respuesta que no tiene que ser exactamente la suma de ambos estímulos. Por ejemplo, el proceso de potenciación a largo plazo, conocido como LTP, es inducido por una breve estimulación tetánica que generalmente dura menos de un segundo pero que cambia la eficacia sináptica durante horas debido a cambios en la concentración de Ca^{2+} intracelular (Bliss y Collingridge 1993).

Los resultados presentados sobre la influencia de las proyecciones corticofugales desde la corteza SI sobre las neuronas de los NCD demuestran que esta proyección funciona como un detector de coincidencia creando una ventana temporal después de la activación cortical que facilita la transmisión hacia el tálamo de determinadas respuestas táctiles e inhibe otras respuestas.

Debido a que la proyección corticofugal selecciona qué tipo de estímulos van a ser facilitados, es muy probable que la proyección corticofugal pueda jugar un papel fundamental en la atención selectiva. La atención selectiva es definida como la función cognitiva que permite orientar los elementos implicados en el procesamiento sensorial hacia estímulos que se consideran relevantes mientras que se ignoran otros estímulos que se consideran irrelevantes (Hillyard et al. 1973, Moran et al. 1985, Vidyasagar 1998, Reynolds et al. 1999, Smith et al. 2000, Vanduffel et al. 2000, Alenda y Núñez 2004). Los resultados presentados en la presente Tesis Doctoral demuestran que el sistema corticofugal modula las respuestas de las neuronas de los NCD a estímulos táctiles facilitando determinados estímulos e inhibiendo otros y, además, enfocando el CR. Este mismo mecanismo también ocurre en otras vías sensoriales y a todos los niveles de la vía sensorial. Por tanto, se puede considerar que las proyecciones corticofugales actúan como un filtro atencional.

Según los resultados el estímulo doloroso induce cambios evidentes en los CRs táctiles de las neuronas de los NCD, con un aumento claro de las respuestas táctiles en áreas vecinas del área donde se ha producido dolor. En la clínica se ha descrito ampliamente cómo en las áreas perilesionales se producen los fenómenos de hiperalgesia y alodinia (e.j. Tal y Bennett 1994; Arevalo et al. 2003; Scanlon et al. 2006). En las áreas perilesionales (alrededor del sitio de inyección de formalina) encontramos un evidente aumento de la respuesta a los estímulos táctiles. Creo que es plausible la posibilidad de que el gran aumento, debido a los mecanismos antes descritos, de las aferencias que llevan información de las áreas perilesionales puede ser interpretado como dolor por centros superiores y

por tanto producir hiperalgesia y alodinia. Este razonamiento podría sugerir que estimulando zonas de SI adyacentes al área de alodinia (en el mapa de representación cortical) podría disminuir la aferencia táctil y quizá la hiperalgesia y la alodinia.

CONCLUSIONES

- 1.- Los núcleos de la columna dorsal tienen dos poblaciones neuronales con propiedades electrofisiológicas diferenciadas. De las dos, las células tipo I son neuronas de proyección talámica, mientras que las tipo II son neuronas de proyección local.
- 2.- La corteza somestésica primaria, mediante una proyección corticofugal directa, tiene capacidad para activar ortodrómicamente a las neuronas de los núcleos de la columna dorsal. La activación es mayor en aquellas neuronas cuyo campo receptivo coincida con el área cortical estimulada.
- 3.- La estimulación eléctrica de una determinada área de la corteza somestésica primaria aumenta la respuesta a estímulos táctiles en aquellas neuronas de los núcleos de la columna dorsal cuyo campo receptivo coincida con el suyo. Sin embargo, inhibe a aquellas neuronas de los núcleos de la columna dorsal cuyo campo receptivo sea distinto. Mediante estos procesos, la corteza puede modificar el campo receptivo de las neuronas de los núcleos de la columna dorsal.
- 4.- Los efectos corticofugales producen cambios duraderos en la actividad de las neuronas de los núcleos de la columna dorsal mientras que la entrada periférica a través de la columna dorsal no tiene este efecto. El efecto facilitador corticofugal es plástico, ya que se puede abolir si se estimula otra área cortical.
- 5.- Las aferencias corticofugales a los núcleos de la columna dorsal son glutamatérgicas y actúan sobre receptores no NMDA y NMDA. Sin embargo, las aferencias del cordón posterior, también glutamatérgicas, actúan sólo sobre receptores no-NMDA.
- 6.- El efecto inhibitorio de la corteza sobre las neuronas de los núcleos de la columna dorsal lo realiza a través de interneuronas, y utiliza como neurotransmisor efector final el GABA.
- 7.- La estimulación de una determinada área de la corteza somestésica primaria induce fenómenos de sincronización en las neuronas de los núcleos de la columna dorsal con su mismo campo receptivo, y desincroniza a aquellas cuyo campo receptivo no coincide.
- 8.- El estímulo doloroso provoca una disminución de la respuesta al estímulo táctil en las neuronas de la columna dorsal, en el área donde se realiza, y un aumento de dicha respuesta en las áreas adyacentes. Dicho aumento de

respuesta requiere la integridad de la función cortical. Sin embargo la disminución en el área del estímulo doloroso ocurre aunque la corteza esté anulada.

Estos resultados demuestran que la corteza somestésica primaria controla el flujo de información somestésica en la primera estación de relevo de esta vía sensorial, facilitando la transferencia de determinados estímulos relevantes e inhibiendo otros estímulos irrelevantes.

BIBLIOGRAFÍA

Abbott, FV, Franklin KBJ, Westbrook RF. TH formalin test. Scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain* 60: 91-102, 1995.

Agmon A, Yang LT, Jones EG, O'Dowd DK. Topological precision in the thalamic projection to neonatal mouse barrel cortex. *J Neurosci* 15 (1Pt2):549-61, 1995.

Aguilar J, Rivadulla C, Soto C y Canedo A. New corticocuneate cellular mechanisms underlying the modulation of cutaneous ascending transmission in anesthetized cats. *J Neurophysiol* 89: 3328-3339, 2003.

Al Chaer ED, Lawand NB, Westlund KN, Willis WD. Pelvic visceral input into the nucleus gracilis is largely mediated by the postsynaptic dorsal column pathway. *J Neurophysiol* 76: 2675-2690, 1996.

Alloway KD, Wallance MB, Johnson MJ. Cross-correlation analysis of cuneothalamic interactions in the rat somatosensory system: influence of receptive field topography and comparisons with thalamocortical interactions. *J Neurophysiol* 72(4):1949-72, 1994.

Andersen P, Eccles JC, Schmidt RF, and Yokota T. Despolarization of presynaptic fibres in the cuneate nucleus. *J Neurophysiol* 27: 92-106, 1964a.

Andersen P, Eccles JC, Schmidt RF, Yokota T. Slow potential waves produced in the cuneatus nucleus by cutaneous volleys and by cortical stimulation. *J Neurophysiol* 27: 78-91, 1964b.

Andersen P, Eccles JC, Oshima T, and Schmidt RF. Mechanisms of synaptic transmission in the cuneate nucleus. *J Neurophysiol* 27: 1906-1116, 1964b.

Andersen P, Etholm B, Gordon G. Presynaptic and post-synaptic inhibition elicited in the cat's dorsal column nuclei by mechanical stimulation of skin. *J Physiol* 210(2):433-55, 1970.

Arevalo MI, Escribano E, Calpena A, Domenech J, Queralt J. Thermal hyperalgesia and light touch allodynia after intradermal *Mycobacterium butyricum* administration in rat. *Inflammation* 27(5):293-9, 2003.

Armstrong-James M, Wellker E, Callahan CA. The contribution of NMDA and non-NMDA receptors to fast and slow transmission of sensory information in the rat SI barrel cortex. *J Neurosci* 13(5):2149-60, 1993.

Avendaño C, Dykes RW. Evolution of morphological and histological changes in the adult cat cuneate nucleus following forelimb denervation. *J Comp Neurol* 370: 479-490, 1996.

Banna NR and Jabbur SJ. Neurochemical transmission in the dorsal column nuclei. *Somatosens and Motor Res* 6: 237-251, 1989.

Barbaresi P, Spreafico R, Frassconi C, and Rustioni A. GABAergic neurons are present in the dorsal column nuclei but not in the ventroposterior complex of the rat. *Brain Res* 382: 305-326, 1986.

Bear MF, Malenka RC. Synaptic plasticity: LTP and LTD. *Curr Opin Neurobiol* 4: 389-399, 1994.

Benson DL, Isackson PJ, Gall CM, Jones EG. Contrasting patterns in the localization of glutamic acid decarboxylase and Ca²⁺/calmodulin protein kinase gene expression in the rat central nervous system. *Neuroscience* 46(4):825-49, 1992.

Bernardo KL, Woolsey TA. Axonal trajectories between mouse somatosensory thalamus and cortex. *J Comp Neurol* 258(4):542-64, 1987.

Berkley KJ, Budell RJ, Blomqvist A, Bull M. Output systems of the dorsal column nuclei in the cat. *Brain Res Rev* 11: 199-225, 1986.

Berkley KJ, Hand PJ. Efferent projections of the gracil nucleus in the cat. *Brain Res* 153: 263-283, 1978.

Bian D, Nichols ML, Ossipov MH, Lai J, Porreca F. Characterization of the antiallodynic efficacy of morphine in a model of neuropathic pain in rats. *Neuroreport* 6: 1981-1984, 1995.

Bian D, Ossipov MH, Zhong C, Malan P, Porreca F. Tactile allodynia, but not thermal hyperalgesia, of the hindlimbs is blocked by spinal transection in rats with nerve injury. *Neurosci Lett* 241: 79-82, 1998.

Blomqvist A, Broman J. Serotonergic innervations of the dorsal column nuclei and its relation to cytoarchitectonic subdivision: an immunohistochemical study in cats and monkeys (*Aotus trivirgatus*). *J Comp Neurol* 327: 584-596, 1993.

Blomqvist A, Westerman J. Interneurons and initial axon collaterals in the feline gracile nucleus demonstrated with the rapid Golgi technique. *Brain Res* 111: 407-410, 1993.

Boivie J. The termination in the thalamus and the zona incerta of fibres from the dorsal column nuclei (DCN) in the cat. an experimental study with silver impregnation methods. *Brain Res* 28(3):459-90, 1971.

Broman J. Neurotransmitters in subcortical somatosensory pathways. *Anat and Embryol* 189: 181-214, 1994.

Brown AW, Waite PM. Responses in the rat thalamus to whisker movements produced by motor nerve stimulation. *J Physiol* 238(2):387-401, 1974.

Burton H, Kopf EM. Ipsilateral cortical connections from the second and fourth somatic sensory areas in the cat. *J Comp Neurol* 225(4):527-53, 1984.

Buonomano DV, Merzenich MM. Cortical plasticity: from synapses to maps. *Annu Rev Neurosci* 21: 305-326, 1998.

Cajal S. *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados*, 1904. Editado por el Instituto de Neurociencias de la Universidad de Alicante en 1992.

Cajal S. *Histologie du système nerveux de l'home et des vertébrés*. París, A. Maloine, 1909. Reimpress. Madrid: Instituto Cajal 1952.

Caldford MB, Tweedale R. Acute changes in cutaneous receptive fields in primary somatosensory cortex after digit denervation in adult flying Fox. *J Neurophysiol* 65 : 178-187, 1991.

Canedo A, Martinez L and Mariño J. Tonic and bursting activity the cuneate nucleus of the chloralose-anesthetized cat. *Neuroscience* 84: 603-617, 1998.

Canedo A, and Aguilar J. Spatial and cortical influences exerted on cuneothalamic and thalamocortical neurons of the cat. *Eur J Neurosci* 12: 2515-2533, 2000.

Castro-Alamancos MA, Donoghue JP, Connors BW. Different forms of synaptic plasticity in somatosensory and motor areas of the neocortex. *J Neurosci* 15: 5324-5333, 1995.

Chambers WW and Liu CN. Cortico-spinal tract of the cat. An attempt to correlate the pattern of degeneration with deficits in reflex activity following neocortical lesions. *J Comp Neurol* 108: 23-55, 1957.

Chapin JK, Lin CS. Mapping the body representation in the SI cortex of anesthetized and awake rats. *J Comp Neurol* 229(2):199-213, 1984.

Cheema SS, Whitsel BL, Rustioni A. The cortico-cuneate pathway in the cat: relation among terminal distribution patterns, cytoarchitecture and single neuron functional properties. *Somatos Res* 1(2): 169-205, 1983.

Cliffer KD, Hasegawa T, Willis WD. Responses of neurons in the gracile nucleus of cats to innocuous and noxious stimuli: basic characterization and antidromic activation from the thalamus. *J Neurophysiol* 68: 818-833, 1992.

Cole JD, Gordon G. Corticofugal actions of lemniscal neurons of the cuneate, gracile and lateral cervical nuclei of the cat. *Exp Brain Res* 90: 384-392, 1992.

Conti F, De Felipe J, Fariñas I and Manzoni T. Glutamate-positive neurons and axon terminals in cat sensory cortex: a correlative light and electron microscopic study. *J Comp Neurol* 290: 141-143, 1989.

Conti F, De Biasi S, Giufrida R, Rustioni. Substrate P-containing projections in the dorsal columns of rats and cats. *Neuroscience* 34: 607-621, 1990.

Contreras D, Curro Dossi R, Steriade M. Electrophysiological properties of cat reticular thalamic neurones in vivo. *J Physiol* 470:273-94, 1993.

Costa-García M and Nuñez A. Nociceptive stimuli induce changes in somatosensory responses of rat dorsal column nuclei neurons. *Brain Res* 1025: 169-176, 2004.

Coulter JD. Sensory transmission through lemniscal pathway during voluntary movement in the cat. *J neurophysiol* 37: 831-845, 1974.

Craig AD, Burton H. The distribution and topographical organization in the thalamus of anterogradely-transported horseradish peroxidase after spinal injections in cat and raccoon. *Exp Brain Res* 58(2):227-54, 1985.

Craig AD, Bushnell MC. The thermal grill illusion: unmasking the burn of cold pain. *Science* 265: 252-255, 1994.

Craig AD, Reinman EM, Evans A, Bushnell MC. Functional imaging of an illusion of pain. *Nature* 384: 258-260, 1996.

Culberson JL and Brown PB. Projection of hindlimb dorsal roots to lumbosacral spinal cord of cats. *J Neurophysiol* 85: 516-528, 1984.

Dawson GD. The effect of cortical stimulation on transmission through the cuneate nucleus in the anesthetised rat. *J Physiol* 142: 2P-3P, 1958.

DeBiasi S, Vitellaro-Zucarello L, Bernardi P, Valtchanoff JG and Weinberg R. Ultrastructural and immunocytochemical characterization of terminals of postsynaptic ascending dorsal column fibres in the rat cuneate nucleus. *J Comp Neurol* 353: 109-118, 1994.

Dejerine J, Roussy G. Le syndrome thalamique. *Rev Neurol* 14 : 521-532, 1906.

Delgado JM, Ferrús A, Mora F, Rubia FJ. *Manual de Neurociencia*. Editorial Síntesis, 1998.

Deuchars SA, Trippenbach T and Spyer KM. Dorsal column nuclei recorded in a brain stem-spinal cord preparation: Characteristics and their responses to dorsal root stimulation. *J Neurophysiol* 84: 1361-1368, 2000.

Diamond IT, Jones EG and Powell TPS. The projection of the auditory cortex upon the diencephalon and brainstem in the cat. *Brain Res Rev* 28: 305-340, 1992.

Dostrovsky JO, Millar J, Wall PD. The immediate shift of afferent drive to dorsal column nucleus cells following deafferentation: a comparison of acute and chronic deafferentation in gracile nucleus and spinal cord. *Exp Neurol*. 1976 Sep;52(3):480-95.

Dostrovsky JO, Millar J. Receptive fields of gracile neurons after transection of the dorsal columns. *Exp Neurol* 6: 610-621, 1977.

Dreyer DA, Loe PR, Metz CB, Whitsel BL. Representation of head and face in postcentral gyrus of the macaque. *J Neurophysiol* 38(3):714-33, 1975.

Dubuisson D, Dennis SG. The fromalin test. A quantitative study of the analgesic effect of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 4: 161-174, 1977.

Dykes RW. Parallel processing of somatosensory information: a theory. *Brain Res Rev* 6:47-115, 1983.

Dykes RW, Gabor A. Magnification functions and receptive field sequences for submodality-specific bands in SI cortex of cats. *J Comp Neurol* 202(4):597-620, 1981.

Dykes RW, Rasmusson DD, Sretavan D, Rehman NB. Submodality segregation and receptive-field sequences in cuneate, gracil and external cuneate nuclei of the cat. *J Neurophysiol* 47: 389-416, 1982.

Ellis LC, Rustioni A. A correlative HRP, Golgi and EM study of the intrinsic organization of the feline dorsal column nuclei. *J Comp Neurol* 197: 341-367, 1981.

Fabri M, Conti F. Calcitonin gene-related peptide-positive neurons and fibers in the cat dorsal column nuclei. *Neuroscience* 35: 167-174, 1990.

Favorov OV, Diamond ME. Demonstration of discrete place-defined columns segregates in the cat SI. *J Comp Neurol* 298(1):97-112, 1990.

Fernández de Sevilla D, Rodrigo-Angulo M, Nuñez A, Buño W. Cholinergic modulation of synaptic transmission and postsynaptic excitability in the rat gracilis dorsal column nucleus. *J Neurosci* 26(15): 4015-4025, 2006.

Fyffe RE, Cheema SS, Light AR, Rustioni A. Intracellular staining study of the feline cuneate nucleus II. Thalamic projecting neurons. *J Neurophysiol* 56: 1284-1296, 1986a.

Fyffe RE, Cheema SS, Rustioni A. Intracellular staining study of the feline cuneate nucleus I. The terminal patterns of primary afferents fibers. *J Neurophysiol* 56: 1268-1283, 1986b.

Ferrington DG, Downie JW, Willis WD Jr. Primate nucleus gracilis neurons: responses to responses to innocuous and noxious stimuli. *J neurophysiol* 59: 886-907, 1998.

Ghez C, Pisa M. Inhibition of afferent transmission on cuneate nucleus during voluntary movement in the cat. *Brain Res* 40: 145-151, 1972.

Giufreda R, Sanderson P, Sapienza S. Effect of microstimulation of movement evoking cortical foci on the activity of neurons of the dorsal column nuclei. *Somatosens Res* 3: 37-47, 1985.

Giufreda R, Rustioni A. Dorsal root ganglion neurons projecting to the dorsal column nuclei of rats. *J Comp Neurol* 316: 202-220, 1992.

Gordon G, and Jukes MGM. Dual organisation of the exteroceptive components of the cat's gracil nucleus. *J Physiol* 173: 263-290, 1964.

Gordon G, Miller R. Identification of cortical cells projecting to the dorsal column nuclei of the cat. *Quart J Exp Physiol* 54: 85-98, 1969.

Gordon G, Paine C. Functional organisation in nucleus gracilis of the cat. *J Physiol* 153: 331-349, 1960.

Gordon G, Seed WA. An investigation of nucleus gracilis of the cat by antidromic stimulation. *J Physiol (London)* 155: 591-600, 1961.

Graybiel AM. Some fiber pathways related to the posterior thalamic region in the cat. *Brain Behav Evol.* 6(1):363-93, 1972.

Groenewegen HJ, Berendse HW. The specificity of the 'nonspecific' midline and intralaminar thalamic nuclei. *Trends Neurosci* 17(2):52-7, 1994.

Harris RM. Morphology of physiologically identified thalamocortical relay neurons in the rat ventrobasal thalamus. *J Comp Neurol* 251(4):491-505, 1986.

Harris RM, Hendrickson AE. Local circuit neurons in the rat ventrobasal thalamus: a GABA immunocytochemical study. *Neuroscience* 21(1):229-36, 1987.

Harrison TR, Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KI, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL eds. *Principles of Internal Medicine*, 16th edition. McGraw-Hill, 2005.

Heino R, Westman J. Quantitative analysis of the feline dorsal column nuclei and their GABAergic and non-GABAergic neurons. *Anat Embriol* 184: 181-193, 1991.

Henderson Z, Sherriff FE. Distribution of choline acetyltransferase immunoreactive axons and terminals in the rat and ferret brainstem. *J Comp Neurol* 314:147-163, 1991.

Laminar organization of thalamic projections to the rat neocortex. *Science* 207(4430):532-5, 1980.

Hicks CP, Dykes RW. Receptive field size for certain neurons in primary somatosensory cortex is determined by GABA-mediated intracortical inhibition. *Brain Res* 274: 160-164, 1983.

Hicks CP, Metharate R, Landry P, Dykes RW. Bicuculine induced alterations of response properties in functionally identified ventroposterior thalamic neurons. *Exp Brain Res* 63: 248-264, 1986.

Hirai T, Jones EG. Segregation of lemniscal inputs and motor cortex outputs in cat ventral thalamic nuclei: application of a novel technique. *Exp Brain Res* 71(2):329-44, 1988.

Houghton AK, Hewitt E and Westlund KN. Dorsal column lesion prevents mechanical hyperalgesia and allodynia in osteotomy model. *Pain* 82, 73-80, 1999.

Hunskar S, Fasner OB and Hole K. Formalin test in mice: a useful technique for measuring mild analgesics. *J Neurosci Methods* 14: 69-76, 1985.

Jabbur SJ, and Towe AL. Cortical excitation of neurons in dorsal column nuclei in cat, including an analysis of pathways. *J Neurophysiol* 24: 499-509, 1961.

Jen PH-S, Zhou X, Zhang J, QC, Sun X. Brief and short-term corticofugal modulation modulation of acoustic signal signal processing in the rat midbrain. *Hearing Res* 168: 196-207, 2002.

Jones EG. Lamination and differential distribution of thalamic afferents within the sensory-motor cortex of the squirrel monkey. *J Comp Neurol* 160(2):167-203, 1975.

Jones EG. *The Thalamus*. New York: Plenum, 1985.

Jones EG, Burton H. Areal differences in the laminar distribution of thalamic afferents in cortical fields of the insular, parietal and temporal regions of primates *J Comp Neurol* 168(2):197-247, 1976.

Jones EG, Friedman DP. Projection pattern of functional components of thalamic ventrobasal complex on monkey somatosensory cortex. *J Neurophysiol* 48(2):521-44, 1982.

Jones EG, Powell TP. The ipsilateral cortical connexions of the somatic sensory areas in the cat. *Brain Res* 9(1):71-94, 1968.

Jones EG, Wise SP, Coulter JD. Differential thalamic relationships of sensory-motor and parietal cortical fields in monkeys. *J Comp Neurol* 183(4):833-81, 1979.

Kaas JH. *The somatosensory system of primates. Comparative primate biology: Neurosciences*. Alan R Liss inc, 1988.

Kaas JH. Plasticity of sensory and motor maps in adult mammals. *Ann Rev Neurosci* 14: 137-167, 1991.

Kaas JH, Nelson RJ, Sur M, Lin CS, MerzenichMM. Multiple representations of the body within the primary somatosensory cortex of primates. *Science* 204(4392):521-3, 1979.

Kalaska J, Pomeranz B. Chronic Paw denervation causes in ache-dependent appearance of novel responses from forearm in "paw cortex" of kittens and adult cats. *J Neurophysiol* 42: 618-633, 1979.

Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Principles of Neural Science*. Fourth Edition. McGraw-Hill, 2000.

King AJ. Sensory processing: Signal selection by cortical feedback. *Curr Biol* 7: R85-R88, 1977.

Kus L, Saxon D, Beitz AJ. NMDA R1 mRNA distribution in motor and thalamic projecting sensory neurons in the rat spinal cord and brain stem. *Neurosci Lett* 25: 201-204, 1995.

Kuypers H, G. J. M and Tuerk D. The distribution of the cortical fibres within the nuclei cuneatus and gracilis in the cat. *J Anat* 98: 143-162, 1964.

Kuypers HG, Hoffman AL, Beasley RM. Distribution of cortical "feedback" fibers in the nuclei cuneatus and gracilis. *Proc Soc Exp Biol Med* 108:634-7, 1961.

Land PW, Buffer SA Jr, Yaskosky JD. Barreloids in adult rat thalamus: three-dimensional architecture and relationship to somatosensory cortical barrels. *J Comp Neurol* 355(4):573-88, 1995.

Land PW, Simons DJ. Metabolic activity in SmI cortical barrels of adult rats is dependent on patterned sensory stimulation of the mystacial vibrissae. *Brain Res* 341(1):189-94, 1985.

Lavallee P, Deschênes M. Dendroarchitecture and lateral inhibition in thalamic barreloids. *J Neurosci* 24(27):6098-105, 2004.

Lee YW, Chaplan SR and Yaksh TL. Systemic and supraspinal, but not spinal, suppress allodynia in a rat neuropathic pain model. *Neurosci Lett* 199: 111-114, 1995.

Levitt M, Carreras M, Liu CM, and Chambers WW. Pyramidal and extrapyramidal modulation of somatosensory activity in gracil and cuneate nuclei. *Arch Ital Biol* 102: 197-229, 1964.

Lue JH, Shieh JY, Wen CY, Chen KN, and Chan SA. GABAergic boutons establish synaptic contacts with the soma and dendrites of cuneothalamic relay neurons in the rat cuneate nucleus. *Exp Brain Res* 98: 13-20, 1994.

Lue JH, Jiang SY, Shieh JY, Wen CY. The synaptic relationship between primary afferent terminals, cuneothalamic relay neurons and GABA-immunoreactive boutons in the rat cuneate nucleus. *J Neurosci Res* 24: 363-371, 1996.

Lue JH, Chen S H, Shieh JY, and Wen CY. Afferent synaptic contacts on Glycine-immunoreactive neurons in the rat cuneate nucleus. *Synapse* 41: 139-149, 2001.

Ma X, and Suga N. Plasticity of bat's central auditory system evoked by focal electric stimulation of auditory and/or somatosensory cortices. *J Neurophysiol* 85: 1078-1087, 2001.

Macchi G, Angeleri F, Guazzi G. Thalamo-cortical connections of the first and second somatic sensory areas in the cat. *J Comp Neurol* 111:387-405, 1959.

Maekawa K, Purpura DP. Intracellular study of lemniscal and non-specific synaptic interactions in thalamic ventrobasal neurons. *Brain Res* 4(4):308-23, 1967.

Magni F, Melzack R, Moruzzi G, and Smith CJ. Direct pyramidal influences on the dorsal column nuclei. *Arch Ital Biol* 97: 357-377, 1959.

Malmierca E, and Nuñez A. Corticofugal action on somatosensory response properties of rat nucleus gracilis cells. *Brain Res* 810: 172-180, 1998.

Mariño J, Martínez L and Canedo A. Sensorimotor Integration at the Dorsal Column Nuclei. *News Physiol Sci* 14: 231-237, 1999.

Mariño J, Canedo A, and Aguilar J. Sensorymotor cortical influences on cuneate nucleus rhythmic activity in anesthetized cat. *Neuroscience* 95: 657-673, 2000.

Mariño J, Martínez L, and Canedo A. Sensorymotor integration at the dorsal column nuclei. *News Physiol Sci* 14: 231-237, 1999.

Martinez L, Lamas JA, and Canedo A. Pyramidal tract and corticospinal neurons with branching axons to the dorsal column nuclei of the cat. *Neuroscience* 68: 195-206, 1995.

Martinez-Lorenzana G, Machin R, Avendaño C. Define segregation of cortical neurons projecting to the dorsal column nuclei in the rat. *Neuroreport* 12: 413-416, 2001.

McComas AJ. Responses of the rat dorsal column system to mechanical stimulation of the hindpaw. *J Physiol (London)* 194: 271-288, 1963.

McComas AJ and Wilson P. an investigation of pyramidal tract cells in the somatosensory cortex of the rat. *J Physiol (London)* 194: 271-288, 1968.

Mehler WR. Some neurological species differences: a posteriori. *Ann. NY Acad. Sci.* 167: 424-468, 1969.

Melzack R y Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science* 150: 971-979, 1965.

Merzenich MM, Kaas JH, Sur M, Lin CS. Double representation of the body surface within cytoarchitectonic areas 3b and 1 in "SI" in the owl monkey (*Aotus trivirgatus*). *J Comp Neurol* 181(1):41-73, 1978.

Merzenich MM, Kaas JH, Wall JP, Sur M, Nelson RJ, Felleman DJ. Topographic reorganisation of somatosensory cortical areas 3b and 1 in adult monkeys following restricted deafferentation. *Neuroscience* 8: 33-35, 1983b.

Merzenich MM, Nelson RJ, Stryker MP, Cynader MS, Schoppmann A, Zook JM. Somatosensory cortical map changes following digit amputation in adult monkeys. *J Comp Neurol* 224: 591-604, 1984.

Miki K, Fukuoka T, Tokunaga A, Noguchi K. Calcitonin gene-related peptide increase in the rat spinal dorsal horn and dorsal column nucleus following peripheral nerve injury: up-regulation in a subpopulation of primary afferent sensory neurons. *Neuroscience* 82: 1243-1252, 1998a.

Miki K, Iwata K, Tsuboi I, Sumino R, Fukuoka T, Tachibana T, Tokunaga A, Noguchi K. Responses of dorsal column nuclei neurons in rats with experimental mononeuropathy. *Pain* 75: 27-36, 1998b.

Millar J, Basbaum AI, Wall PD. Restructuring of the somatotopic map appearance of abnormal neuronal activity in the gracile nucleus after partial deafferentation. *Exp Neurol* 50: 658-672, 1976.

Mountcastle VB. The columnar organization of the neocortex. *Brain* 120 (Pt 4):701-22, 1997.

Mountcastle VB, Henneman E. Pattern of tactile representation in Thalamus of cat. *J Neurophysiol* 12: 85-100, 1949.

Mountcastle VB, Henneman E. The representation of tactile sensibility in the thalamus of the monkey. *J Comp Neurol* 97(3):409-39, 1952.

Mountcastle VB, Powell TP. Neural mechanisms subserving cutaneous sensibility, with special reference to the role of afferent inhibition in sensory perception and discrimination. *Bull Johns Hopkins Hosp* 105:201-32, 1959.

Nicolelis MA, Chapin JK. Spatiotemporal structure of somatosensory responses of many-neuron ensembles in the rat ventral posterior medial nucleus of the thalamus. *J Neurosci* 14(6):3511-32, 1994.

Nicolelis MAL, Lin RCS, Woodward DJ, Chapin JK. Induction of immediate spatiotemporal changes in thalamic networks in peripheral block of ascending cutaneous information. *Nature* 361: 533-536, 1993.

Núñez A, Amzica F, Steriade M. Electrophysiology of cat association cortical cells in vivo: intrinsic properties and synaptic responses. *J Neurophysiol* 70(1):418-30, 1993.

Núñez A, Barrenechea C, Avendaño C. Spontaneous activity and responses to sensory stimulation in ventrobasal thalamic neurons in the rat: an in vivo intracellular recording and staining study. *Somatosens Mot Res* 11(1):89-98, 1994.

Núñez A, Buño W. In vitro electrophysiological properties of rat dorsal column nuclei neurons. *Eur J Neurosci* 11: 1865-1876, 1999.

Núñez A, Buño W. Properties and plasticity of synaptic inputs to rat dorsal column neurons recorded in vitro. *J Physiol* 535.2: 483-495, 2001.

Nuñez A, Panetsos F and Avendaño C. Rhythmic neuronal interactions and synchronization in the rat dorsal column nuclei. *Neuroscience* 100: 599-609, 2000.

Palmeri A, Bellomo M, Giufreda R, and Sapienza S. Motor cortex modulation of exteroceptive information at bulbar and thalamic lamiscal relays in the cat. *Neuroscience* 88: 135-150, 1999.

Panetsos F, Nuñez A, and Avendaño C. Local anaesthesia induces immediate receptive field changes in nucleus gracilis and cortex. *Neuroreport* 7(1): 150-152, 1995.

Panetsos F, Nuñez A, and Avendaño C. Local anaesthesia induces immediate receptive field changes in nucleus gracilis and cortex. *Neuroreport* 7: 150-152, 1996.

Panetsos F, Nuñez A, and Avendaño C. Electrophysiological effects of temporally deafferentation on two characterised cell types in the nucleus gracilis of the rat. *Eur J Neurosci* 9: 563-572, 1997.

Panetsos F, Nuñez A, and Avendaño C. Sensory information processing in the dorsal column nuclei by neuronal oscillators. *Neuroscience* 84: 635-639, 1998.

Paul RL, Merzenich M, Goodman H. Representation of slowly and rapidly adapting cutaneous mechanoreceptors of the hand in Brodmann's areas 3 and 1 of *Macaca mulatta*. *Brain Res* 36(2):229-49, 1972

Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, New York 1986.

Peschanski M, Beeson JM. A spino-reticulo-thalamic pathway in the rat: an anatomical study with reference to pain transmission. *Neuroscience* 12(1):165-78, 1984.

Pettit MJ, Schwark HD. Receptive fields reorganisation in dorsal column nuclei during temporally denervation. *Science* 262: 2054-2056, 1993.

Poggio GF, Mountcastle VB. A study of the functional contributions of the lemniscal and spinothalamic systems to somatic sensibility. Central nervous mechanisms in pain. Bull Johns Hopkins Hosp 106:266-316, 1960.

Popratiloff A, Valtchanoff JG, Rustioni A, and Weinberg RJ. Colocalization of GABA and glycine in the rat dorsal column nuclei. Brain Res 706: 308-312, 1996.

Popratiloff A, Rustioni A, and Weinberg RJ. Heterogeneity of AMPA receptors in the dorsal column nuclei of the rat. Brain Res 754: 333-339, 1997.

Porter LL. Patterns of connectivity in the cat sensory-motor cortex: a light and electron microscope analysis of the projection arising from area 3a. J Comp Neurol 312(3):404-14, 1991.

Powell TP, Mountcastle VB. Some aspects of the functional organization of the cortex of the postcentral gyrus of the monkey: a correlation of findings obtained in a single unit analysis with cytoarchitecture. Bull Johns Hopkins Hosp 105:133-62, 1959.

Ramachandran VS, Stewart M, Rogers-Ramachandran RD. Perceptual correlates of massive cortical reorganisation. Neuroreport 3: 583-586, 1992.

Rasmusson DD. Changes in the response properties of neurons in the ventroposterior lateral thalamic nucleus of the raccoon after peripheral deafferentation. J Neurophysiol. 1996 Jun;75(6):2441-50.

Rasmusson DD, Turnbull BG. Immediate effects of digit amputation on SI cortex in the raccoon: unmasking of inhibitory fields. Brain Res 288: 368-370, 1983.

Rausell E, Avendaño C. Thalamocortical neurons projecting to superficial and to deep layers in parietal, frontal and prefrontal regions in the cat. Brain Res 347(1):159-65, 1985.

Rausell E, Cusick CG, Taub E, Jones EG. Chronic deafferentation in monkeys differentially affects nociceptive and nonnociceptive pathways distinguished by specific calcium-binding proteins and down-regulates gamma aminobutyric acid type A receptors at thalamic levels. *Proceed Nat Ac Sci USA* 89: 2571-2575.

Rausell E, Jones EG. Extent of intracortical arborization of thalamocortical axons as a determinant of representational plasticity in monkey somatic sensory cortex. *J Neurosci* 15(6):4270-88, 1995.

Rhoades RW, Belford GR, Killackey HP. Receptive-field properties of rat ventral posterior medial neurons before and after selective kainic acid lesions of the trigeminal brain stem complex. *J Neurophysiol* 57(5):1577-600, 1987.

Rose JE, Mountcastle VB. Activity of single neurons in the tactile thalamic region of the cat in response to a transient peripheral stimulus. *Bull Johns Hopkins Hosp* 94(5):238-82, 1954.

Rustioni A, Cunéod M. Selective retrograde transport of D-aspartate in spinal interneurons and cortical neurons of rats. *Brain Res* 236: 143-155, 1982.

Rustioni A and Hayes NL. Corticospinal tract collaterals to the dorsal column nuclei of cats. *Exp Brain Res* 43: 237-245, 1981.

Rustioni A, Schmechel DE, Cheema S, Fitzpatrick D. Glutamic acid decarboxylate-containing neurons in the dorsal column nuclei of the cat. *Somatos Res* 1: 329-357, 1984.

Rustioni A, and Weinberg RJ. The somatosensory system. In *Handbook of Chemical Neuroanatomy*, ed. Björklund A, Hökfelt T and Swanson LW, pp. 219-321. Elsevier, Amsterdam, 1989.

Salt TE, Eaton SA. Function of non-NMDA receptors and NMDA receptors in synaptic responses to natural somatosensory stimulation in the ventrobasal thalamus. *Exp Brain Res* 77(3):646-52, 1989.

Salt TE, Eaton SA. Postsynaptic potentials evoked in ventrobasal thalamus neurones by natural sensory stimuli. *Neurosci Lett* 114(3):295-9, 1990.

Salt TE, Eaton SA. Modulation of sensory neurone excitatory and inhibitory responses in the ventrobasal thalamus by activation of metabotropic excitatory amino acid receptors. *Neuropharmacology* Aug;34(8):1043-51, 1995.

Scanlon GC, Wallace MS, Ispirescu JS, Schulteis G. Intradermal capsaicin causes dose-dependent pain, allodynia, and hyperalgesia in humans. *J Investing Med* 54(5):238-44, 2006.

Schwark HD, Ilyinsky OB. Inflammatory pain reduces correlated activity in the dorsal column nuclei. *Brain Res* 889: 295-302, 2001.

Shosaku A. A comparison of receptive field properties of vibrissa neurons between the rat thalamic reticular and ventro-basal nuclei. *Brain Res* 11:347(1):36-40, 1985.

Shosaku A, Kayama Y, Sumitomo I. Somatotopic organization in the rat thalamic reticular nucleus. *Brain Res* 311(1):57-63, 1984.

Sillito AM, Jones HE, Gerstein GL, West DC. Feature-linked synchronization of thalamic relay cell firing induced by feedback from the visual cortex. *Nature* 369: 479-482, 1994.

Simon JR, Oderfeld-Nowak B, Felten DL, Aprison MH. Distribution of choline acetyltransferase, acetylcholinesterase, muscarinic receptor binding, and choline uptake in discrete areas of the rat medulla oblongata. *Neurochem Res* 6(5): 497-505, 1981.

Simons DJ, Carvell GE. Thalamocortical response transformation in the rat vibrissa/barrel system. *J Neurophysiol* 61(2):311-30, 1989.

Simons DJ, Carvell GE, Bryant DP. Responses of barrel cortex neurons in awake rats and effects of urethane anesthesia. *Exp Brain Res* 91(2):259-72, 1992.

Spreafico R, Hayes NL, Rustioni A. Thalamic projections to the primary and secondary somatosensory cortices in cat: single and double retrograde tracer studies. *J Comp Neurol* 203(1):67-90, 1981.

Steriade M, Oakson G, Diallo A. Reticular influences on lateralis posterior thalamic neurons. *Brain Res* 131: 55-71, 1977.

Sugitani M. Electrophysiological and sensory properties of the thalamic reticular neurones related to somatic sensation in rats. *J Physiol* 290(2):79-95, 1979.

Sumitomo I, Takahashi Y, Kayama Y, Ogawa T. Burst discharges associated with phasic hyperpolarizing oscillations of rat ventrobasal relay neurons. *Brain Res* 447(2):376-9, 1988.

Tal M, Bennett GJ. Extra-territorial pain in rats with a peripheral mononeuropathy: mechano-hyperalgesia and mechano-allodynia in the territory of an uninjured nerve. *Pain* 57(3):375-82, 1994.

Tan CK, Lieberman AR. Identification of thalamic projection cells in the rat cuneate nucleus: a light and electron microscopy study using horseradish peroxidase. *Neurosci Lett* 10: 19-22, 1978.

Towe AL, and Jabbur SJ. Cortical inhibition of neurons in dorsal column nuclei of cat. *J Neurophysiol* 24: 488-498, 1961.

Towe AL, and Zimmerman ID. Peripherally evoked cortical reflex in the cuneate nucleus. *Nature* 194: 1250-1251, 1962.

Valverde F. The pyramidal tract in rodents. A study of its relations with the posterior column nuclei, dorsolateral reticular formation of the medulla, and cervical spinal cord (Golgi and M.E. observations). *Zeit Zellforsch* 71: 297-363, 1966.

Villa AE, Rouiller EM, Simm GM, Zurita P, de Ribaupierre Y and de Ribaupierre F. Corticofugal modulation of the information processing in the auditory thalamus of the cat. *Exp Brain Res* 86: 506-517, 1991.

Waite PM. Somatotopic organization of vibrissal responses in the ventrobasal complex of the rat thalamus. *J Physiol* 228(2):527-40, 1973.

Walberg F. Corticofugal fibres to the nuclei of the dorsal columns. An experimental study in the cat. *Brain* 80: 273-287, 1957.

Watanabe M, Mishina M, and Inoue Y. Distinct distributions of five NMDA receptor channel subunit mRNAs in the brainstem. *J Comp Neurol* 343: 520-531, 1994.

Weisberg JA, and Rustioni A. Cortical cells projecting to the dorsal column nuclei of the cats. An anatomical study with the horseradish peroxidase technique. *J Comp Neurol* 168. 425-438, 1976.

Weisberg JA, and Rustioni A. Differential projections of cortical sensorymotor areas upon the dorsal column nuclei of cats. *J Comp Neurol* 184: 401-422, 1979.

Willis WD, Coggeshall. *Sensory mechanisms of the spinal cord*. New York, Plenum Press, 1991.

Willis WD jr. *Neurobiology. Cold, pain and the brain*. *Nature*. 373(6509):19-20, 1995.

Woolsey TA, Van der Loos H. The structural organization of layer IV in the somatosensory region (SI) of mouse cerebral cortex. The description of a cortical field composed of discrete cytoarchitectonic units. *Brain Res* 17(2):205-42, 1970.

Yan J, Ehret G. Corticofugal reorganization of the midbrain tonotopic map in mice. *Neuroreport* 12: 3313-3316, 2001.

Yan J, Suga N. Corticofugal domination of time-domain processing of biosonar information in bats. *Science* 273: 1100-1103, 1996.

Yen CT, Conley M, Jones EG. Morphological and functional types of neurons in cat ventral posterior thalamic nucleus. *J Neurosci* 5(5):1316-38, 1985.

