



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

---

---

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
CAMPUS IZTACALA

ANALISIS DE LAS FLUCTUACIONES  
CORRELACIONADAS ENTRE EL REFLEJO  
MONOSINAPTICO Y EL REFLEJO H EN LA RATA  
ADULTA.

**T E S I S**

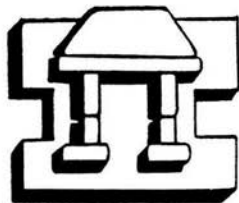
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**LICENCIADO EN BIOLOGIA**

P R E S E N T A :

**JOAQUINA ALEJANDRA REZA ABUNDIO**

DIRECTOR DE TESIS: DR. ISMAEL JIMENEZ ESTRADA



**IZTACALA**

LOS REYES IZTACALA TLALNEPANTLA, EDO. DE MEXICO 2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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



U.N.A.M. CAMPUS

## **REFLEXIONES**

***"Mira todas las cosas como si fuera la primera o la ultima vez, así tu tiempo sobre la tierra se llenara de gloria".***

***- anónimo-***

***"Haz que las contrariedades te alienten y los obstáculos te engrandezcan".***

***-anónimo-***

***"Todos los triunfos nacen cuando nos atrevemos a comenzar".***

***-Eugene Ware-***

## **DEDICATORIA**

- *A mí mama PASCUALA ABUNDIO, por haber sembrado en mí la semilla de la perseverancia “té extraño”.*
- *A mí hermana GUILLERMINA REZA por su gran apoyo y los jalones de orejas a tiempo, estas palabras no expresan toda mi gratitud.*
- *A mis hermanas, ANGELES, MARÍA, CARMEN, SUSANA Y MAGDALENA, por que sé que tengo su apoyo incondicional.*
- *A mis sobrinos, ANGEL VALENCIA, FERNANDA Y DAVID ROJAS, HUMBERTO, CARLOS Y LUIS ZARAZÚA, por que me han enseñado que siempre hay algo por lo que se debe seguir adelante.*
- *A mi papa JOSE REZA por estar con nosotros.*
- *A ΔΙΟΣ ΠΟΡ ΠΕΡΜΙΤΙΡΜΕ ΛΛΕΓΑΡ Α ΕΣΤΕ Δ⊆Α.*

## AGRADECIMIENTOS

- *Al Dr. Ismael Jiménez Estrada por permitirme participar en el proyecto de investigación a su cargo, por su paciencia y por la dirección prestada en la realización de esta tesis por su apoyo gracias.*
- *A la M en C. Bertha Segura Alegría por su paciencia y gran ayuda tanto en la realización de los experimentos, como en la parte escrita, por su calidad humana, unas palabras no expresan todo lo que le quiero agradecer gracias.*
- *A el Químico José Carlos Guadarrama Olmos por el cuidado de los animales y el apoyo técnico que presto para la realización de los experimentos.*
- *Al Ingeniero Enrique Velázquez y al Ingeniero Profirio Reyes, por la realización del programa de experimentación utilizado, y la asesoría técnica prestada para la realización de este trabajo, muchas gracias.*
- *A mis sinodales, Biol. Jorge Gersenowies, M en C. Mónica Sánchez y al Biol. Hugo Castro, por la revisión y comentarios realizados para enriquecer esta tesis.*
- *A la M en C. Celia Reyes Legorreta, por ser la persona que es “no cambies”, por su amistad la cual espero seguir teniendo mucho tiempo.*
- *A el Dr. Rogelio Picazo por sus comentarios, sin saberlo fue una gran influencia en mí gracias.*
- *A la señora Alicia, por su apoyo y comentarios, a Vicky, Hermila y Lupita “lo logre”.*
- *A todas aquellas personas de las cuales siempre recibí una palabra de aliento y apoyo, no los he olvidado, muchísimas gracias.*

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>IZT.</b>	<i>pagina</i>
*REFLEJOS		1
*Reflejos monosinápticos		3
*Reflejos polisinápticos		4
*PATOLOGÍA DE LA UNIDAD MOTORA		5
*REFLEJO H		6
<b>ANTECEDENTES</b>		10
<b>JUSTIFICACIÓN</b>		12
<b>OBJETIVO GENERAL</b>		12
<b>OBJETIVOS PARTICULARES</b>		12
<b>METODOLOGÍA</b>		13
1-.Condiciones de los animales experimentales		13
2-.Disección		13
3-.Registro del reflejo monosináptico y reflejo H		15
<b>*PROTOCOLO EXPERIMENTAL</b>		
A) Determinación del umbral de excitación		17
B) Estimulación con intensidades crecientes (veces umbral)		17
C) Análisis de fluctuaciones estimulación supramáxima (1 f/8 s) constante durante 60 s.		18
4-.análisis de resultados		18

<b>RESULTADOS</b>	20
<b>1) APLICACIÓN DE DIFERENTES INTENSIDADES EN NERVIOS CIÁTICOS Y MÚSCULOS PLANTARES DE LA RATA.</b>	20
*A) Intensidades crecientes de estimulación	20
*B) Análisis de fluctuaciones	27
<b>DISCUSIÓN</b>	33
<b>CONCLUSIONES</b>	36
<b>ANEXO I</b>	37
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	38



## ***INTRODUCCIÓN***

### ***REFLEJOS***

Los animales tienen la capacidad de desplazarse en su ambiente, de tal manera que pueden moverse hacia los sitios donde satisfacen sus requerimientos vitales. La capacidad de moverse (locomoción) resulta de la evolución conjunta del sistema nervioso y del aparato locomotor, por lo cual se considera que evolucionaron en forma paralela alcanzando su máxima manifestación en los primates y particularmente en el humano (Mascher, 1999). Este proceso evolutivo hace posible que los organismos respondan a estímulos externos de su entorno, produciendo a su vez distintos tipos de conductas estereotipadas tales como la defensa ó la alimentación (Katz, 1966).

Una de las primeras observaciones, con referencia al movimiento, son las realizadas por el anatomista Galeno (200 A.C.), quien mediante la teoría del pneuma (aliento de vida), propuso que el movimiento dependía de la musculatura, la cual se encontraba unida por cordones (nervios), que se intercomunicaban y a través de ellos se transportaba el pneuma (de origen espiritual), que era responsable del movimiento (Smith, 1986).

Descartes (1596-1650) estudio la concepción del movimiento y consideró que el cuerpo humano era una maquinaria que se accionaba a la infusión de un "espíritu animal" y no del pneuma animal como pensaba Galeno, Descartes consideró que el movimiento era un ente no material dependiente de combustible. Hipotetizó la teoría del "espíritu animal" la cual suponía que: "un estímulo cualquiera que se da en la piel, desencadena un proceso que llega al cerebro, en el cual se encuentra un poro, que al recibir la

señal se abre dejando que el "espíritu animal" fluya e infle a los músculos, lo que causaría el movimiento (Smith 1986; Rudomin, Dutton 1968).

Posteriormente Bell (1811) y Magendie (1822) inician los primeros estudios de la actividad refleja, a estos autores les siguen otros más. Sin embargo, es hasta las observaciones de Setschenov (1863), que se vislumbra al reflejo como causante del movimiento. Hall (1830), fue quien denominó reflejo al movimiento observado en caso de emergencia. Posteriormente Sherrington, Ramon y Cajal (1888), establecen que tanto la neurona como el reflejo son unidades anatómicas y funcionales del SN Solodkin, Muñoz,-Martínez, y Jimenéz, 1999).

Las propiedades más conocidas de los reflejos son: a) poseen un umbral de generación, b) la graduación del estímulo no es seguida de una graduación similar de respuesta, c) si el estímulo es repetitivo, la respuesta no sigue el ritmo o lo hace en forma parcial o limitada, d) los estímulos únicos en un nervio sensitivo son poco adecuados para una respuesta refleja (Cingolani y Houssay, 2000; Ruch y Patton 1965; Ninomiya 1991).

El centro reflejo es la agrupación de neuronas y sus contactos (sinapsis) que conforman una compleja red que se encarga de la respuesta refleja, con las características ya mencionadas. La ubicación de los centros reflejos es variable, pero en general, cuanto más simple es el reflejo, más fácil es la localización (Ninomiya 1991).

Los reflejos han sido agrupados para su estudio en clasificaciones diferentes, entre las cuales destacan:

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

Reflejos interoceptivos: Estimulos que afecta directamente al tubo digestivo, (ajuste de secreciones)

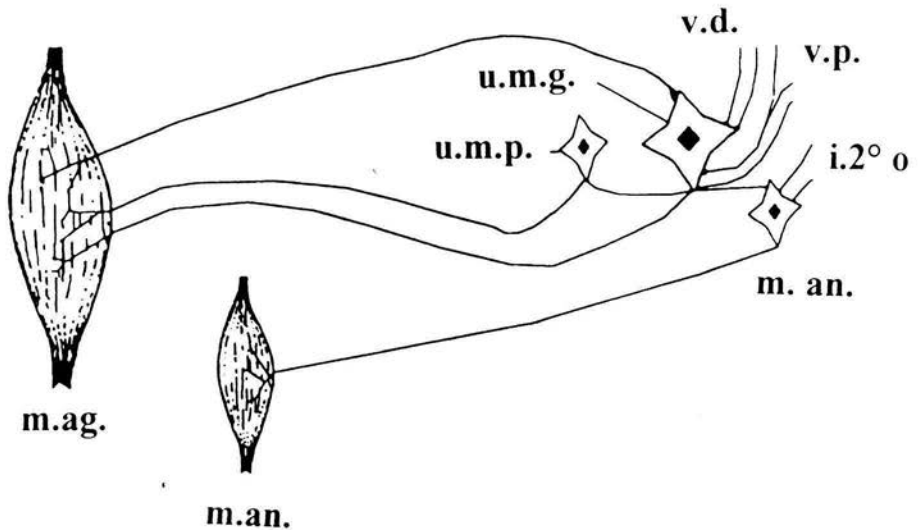
Reflejos propioceptivos: Se asocian a la activación de receptores localizados dentro de los tejidos en que se involucra la contracción muscular, (postura por la estimulación de receptores articulares ó vestibulares; Cingolani y Houssay 2000; Ninomiya 1991; Perot, Almeida y Silveira, 1994).

Considerando las vías eferentes y órganos efectores, los reflejos se dividen en dos grandes grupos: reflejos somáticos, cuyo órgano efector es el músculo estriado, y reflejos vegetativos en donde los órganos efectores son el músculo liso, el corazón, los vasos, y las glándulas.

Al analizar los reflejos en función del número de sinapsis o neuronas involucradas en el centro reflejo, se subdividen en:

**Reflejos monosinápticos:** en este tipo de reflejos existe tan solo una sinapsis con la motoneurona, la cual es dada por las fibras sensoriales que están en contacto con las motoneuronas (fibras Ia), y que provienen de receptores que son muy sensibles al estiramiento (husos musculares; Ruch y Patton, 1965; Burke y Rudomin, 1960; Cingolani y Houssay, 2000; Ninomiya, 1991).

Este tipo de reflejos ha sido uno de los más estudiados debido a que se puede provocar por la estimulación de las raíces dorsales. En este reflejo intervienen fibras nerviosas del tipo Ia, la descarga de los receptores musculares genera potenciales de acción en las fibras aferentes Ia, que al hacer contacto sináptico con las motoneuronas, localizadas en el cuerno ventral, las activa provocando la generación de potenciales de acción que viajan por las fibras eferentes hacia los músculos (Ruch y Patton, 1965; Burke y Rudomin, 1960; Ninomiya, 1991; figura 1).



**Figura 1.** Esquema de la descarga monosináptica de fibras aferentes en un nervio se pueden observar las partes que componen a la descarga monosináptica, músculo agonista (m. ag), músculo antagonista (m. an.), motoneuronas grandes (u.m.g), motoneuronas pequeñas (u.m.p), vías desendentes(v.d.), vías propioespinales (v.p.), interneuronas de 2º orden (i. 2ºo), motoneurona antagonista (m.a.). (Tomado y modificado de Ruch y Patton, 1965).

**Reflejos polisinápticos:** estos reflejos se manifiestan por la activación de dos o más sinapsis interpuestas en la vía de activación de las motoneuronas. La distribución de la descarga refleja que se provoca por la estimulación del grupo de fibras, II, III, IV de nervios musculares, o de fibras de los grupos alpha, delta ó C de nervios cutáneos. Esta señal es muy difusa, de manera que tales descargas puede detectarse en la fibra motora que inervan muchos

músculos de las extremidades, sin embargo las señales multisinápticas no son de actividad indiscriminada y la mayoría es localizada en músculos flexores (Ruch y Patton, 1965; Cingolani y Houssay, 2000).

Dado que los tipos de acción motora están determinados por los potenciales de acción transmitidos por los nervios motores, la organización de la contracción de los músculos es una consecuencia temporal y espacial que da el movimiento armónico del reflejo. Esto puede atribuirse a la acción organizativa y rectora del centro nervioso que interviene cuando estimulamos los nervios sensitivos (Cingolani y Houssay, 2000).

## ***PATOLOGÍA DE LA UNIDAD MOTORA***

Cualquiera de los componentes funcionales de la unidad motora puede verse afectada por circunstancias patológicas ó accidentales, así cuando se lesiona el soma de las motoneuronas sobreviene una enfermedad neurogénica, si se lesiona el axón se dan las neuropatías, mientras que la lesión del músculo da lugar a las miopatías, algunas de estas lesiones se acompañan de debilidad muscular y en algunos casos de la atrofia del mismo músculo (Cingolani y Houssay, 2000).

Algunos de los exámenes más utilizados para la evaluación del sistema nervioso y muscular son los estudios electrofisiológicos, entre los que destacan el electromiograma (EMG), y el examen de conducción nerviosa, en los que se evalúan la variabilidad que presentan algunos reflejos como, el reflejo patelar, el reflejo miotático y el reflejo de Hoffman (reflejo H). En

algunos casos se analizan enzimas en plasma y se realiza biopsia muscular, (Cingolani y Houssay, 2000; Ruch y Patton, 1965).

Las anomalías más observadas en cuanto a la afectación de los reflejos son: a) ausencia o hiperactividad de la respuesta, b) respuesta nula ó hipoactiva al estímulo, c) de respuestas hiperactivas ó desordenadas a los estímulos (Ruch y Patton, 1965).

En la neurología clínica no se ha utilizado toda la información sobre las investigaciones de los reflejos en el hombre, sin embargo, por medio de estos reflejos se puede observar el grado de alteración del SNC y SNP. La importancia de estos estudios consiste en que podamos observar los cambios anormales en una etapa temprana del cuadro clínico (Táboriková, 1968).

## ***REFLEJO H***

Debido a que es una técnica no invasiva, que permite estudiar la excitabilidad de las vías reflejas, el reflejo H ha sido utilizado en la clínica para observar y determinar anomalías del SNC y SNP.

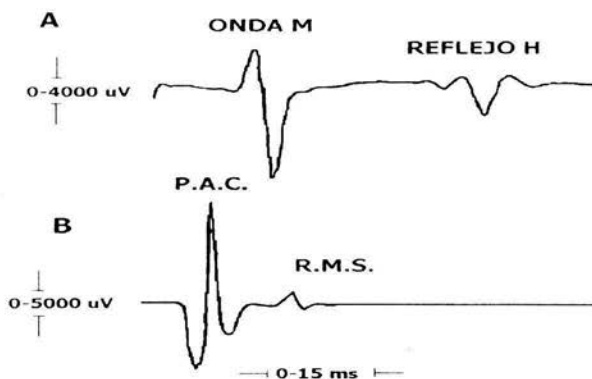
En 1918 Paul Hoffman desarrolló esta técnica a partir de una modificación del reflejo miótatico, demostrando que la estimulación eléctrica submáxima aplicada al nervio tibial posterior produce una respuesta tardía en los músculos tríceps sural, gemelos y soleo del humano (Magladery, 1955; Katz, 1966). Posteriormente Meinck en 1976, reporta una actividad semejante en músculos plantares de ratas adultas.

Se considera que una pequeña parte de una población de motoneuronas que inervan a un músculo es el encargado de la manifestación del reflejo H.

En el humano, el reflejo H se genera mediante electrodos de estimulación superficiales colocados en la fosa poplitea de los miembros posteriores, y la respuesta refleja se registra en los músculos gastronemio y soleo, por medio de electrodos superficiales colocados cuidadosamente. Esta respuesta se observa através de un electromiograma (EMG; Taborikova, 1968).

Dentro del EMG, se observan dos componentes (figura 2a). El primero de latencia corta (2-4 ms), denominada como onda M, que es el resultado de la activación directa de las fibras musculares por los axones motores y en su generación no participa ningún circuito espinal; el segundo componente, de latencia mas larga (8-12 ms), conocido como el reflejo H, es provocado por la activación de las fibra aferentes Ia que a su vez excitan las motoneuronas espinales, cuyos axones inducen la actividad refleja registrada en el músculo (Magladery y Mcdougal, 1950; Mazzochio y cols 1995; Gozariu y cols, 1998).

El reflejo H es considerado como un reflejo monosináptico y se utiliza en la clínica para evaluar de manera indirecta, la excitabilidad refleja de la motoneuronas, sin embargo para provocar este reflejo deben activarse no solamente las motoneuronas localizadas en la médula espinal, sino también la unión de la placa neuromuscular, que es la sinápsis entre el axón eferente y la fibra muscular (Taborikova, 1968; Cheng y cols, 1998; Voigt y Sinkjaer, 1998).



**Figura 2.** Registro en músculo y en nervio en el cual se pueden observar las señales bajo estudio, A) registro del músculo observándose la onda M y el reflejo H, B) registro del nervio mixto, donde se observa el P.A.C. y reflejo monosináptico.

En contraste, el reflejo monosináptico provocado por la estimulación directa del nervio mixto en animales experimentales, provoca una respuesta eléctrica que se registra en el mismo nervio y que presenta dos componentes (figura 2b). Uno de latencia breve (0.3-2 ms), que corresponde al potencial de acción compuesto (PAC), generado por la excitación de los axones que constituyen al nervio mixto, y otro de mayor latencia (2-3 ms) que es el reflejo monosináptico (RMS), el cual es la respuesta refleja a la excitación de las motoneuronas por las vías aferentes. En la generación del PAC no media ninguna sinapsis, mientras que el RMS es provocado por la interacción sináptica de las aferentes musculares sobre las motoneuronas (Stanley, 1981; Rudomin, Jimenez y Enriquez, 1991).



Una de las características más notables del reflejo H y del reflejo monosináptico es que presentan una gran variabilidad de amplitud en el tiempo (Somjen y Heath, 1966).

Hultborn y cols. (1987) asocian la variabilidad del reflejo H a cambios en la actividad de las interneuronas espinales que realizan contactos sinápticos con las motoneuronas. Sugiriendo que las interneuronas reciben acciones excitatorias o inhibitorias de las vías descendentes, que provocan las fluctuaciones en la amplitud del reflejo H.

El RMS también presenta fluctuaciones considerables en su amplitud y se ha sugerido que el origen de esta variabilidad es la actividad de fondo de las interneuronas que efectúan contactos sinápticos con las motoneuronas. (Hunt, 1955; Somjen y Heath, 1966; Nozaki y cols, 1996; Manjarez et. al, 2000).

**IZT.**



**U.N.A.M. CAMPUS**

## *ANTECEDENTES*

El desarrollo de técnicas no invasivas que permiten el estudio de los reflejos espinales en el hombre, es sin duda un gran avance ya que la mayoría de estos estudios están enfocados a la clínica, sin embargo existen pocos estudios que involucren los mecanismos de control que modifican las relaciones funcionales entre neuronas individuales y la población a la que pertenecen (Taborikova, 1965).

En 1968 y 1969 Rudomín y Dutton demostraron que la variabilidad de los reflejos monosinápticos producidos por estímulos aferentes constantes se ve reducida por estímulos que producen despolarización de aferentes primarias (DAP) e inhibición presináptica. En ese tiempo se sugirió que la variabilidad en la transmisión sináptica de la medula espinal era resultado de la activación sincrónica (correlacionada) de un conjunto de interneuronas que afectan el potencial de membrana de las arborizaciones terminales de muchas fibras aferentes (de los husos musculares en este caso).

Posteriormente Rudomín y cols. 1970 iniciaron una segunda etapa de experimentos, enfocada principalmente a esclarecer si la actividad de las interneuronas espinales fuese disminuida o desincronizada por estímulos a nervios sensoriales, reducirían la variabilidad de los reflejos monosinápticos. Demostraron que durante la inhibición presináptica aumenta la relación señal-ruido del sistema (fibras Ia motoneuronas), en esos estudios se analizó la correlación de las respuestas de las motoneuronas individuales con las respuestas de toda la población (pool motoneuronal), y los resultados demostraron que la aplicación de estímulos aferentes que reducen las fluctuaciones de reflejos monosinápticos también disminuyen la correlación de las respuestas individuales con las de la población. Esto indica que el grado

de pertenencia de un individuo a su población no es una característica constante del sistema neuronal, y está sujeto a un control aferente y quizá supraespinal.

Después de las investigaciones de Rudomín y Dutton se da una gran laguna en cuanto a estudios de correlación en reflejos monosinápticos y es hasta 1976 que Meinck y colaboradores, proponen un modelo de registro del reflejo H en ratas adultas colocando electrodos de aguja en los músculos plantares y obtienen un registro que posee las mismas características que el reflejo H descrito por Hoffman en 1918 en humanos.

Posteriormente Nozaki y cols. en 1996 realizan un trabajo de correlación del reflejo H. A partir de un estudio de correlación por medio de fractales (caos), y en el cuál durante la obtención de las respuestas provocadas, proponen que la variabilidad del reflejo H es de origen presináptico.

Como ya se mencionó anteriormente el reflejo monosináptico y el reflejo H son dos reflejos que se originan por la activación de las motoneuronas espinales, lo que hace factible suponer que las variaciones en la amplitud, que presentan ambos reflejos estarían correlacionada entre sí.

## **JUSTIFICACIÓN**

Dado que en la actualidad, existe una notoria falta de información sobre la estricta correlación que ambos reflejos mantienen entre sí, el presente estudio pretende establecer las posibles relaciones funcionales entre las fluctuaciones de amplitud de los reflejos monosináptico y el de Hoffman en la rata adulta.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Establecer la posible correlación existente entre las variaciones en la amplitud del reflejo monosináptico y las del reflejo H en la rata adulta.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Registrar simultáneamente las respuestas electroneurográficas (potencial de acción compuesto y reflejo monosináptico) y electromiográficas (onda M y reflejo de Hoffman) producidas por la estimulación del nervio tibial de las extremidades posteriores de la rata adulta.
2. Establecer la relación, intensidad del estímulo y amplitud de las respuestas electroneurográficas y electromiográficas.
3. Determinar la posible correlación existente entre las amplitudes de las distintas respuestas obtenidas con intensidades crecientes de estimulación.
4. Establecer la posible correlación existente entre las fluctuaciones del reflejo monosináptico y las del reflejo H, durante un período de tiempo prolongado

## **METODOLOGÍA**

### **1.-CONDICIONES DE LOS ANIMALES EXPERIMENTALES**

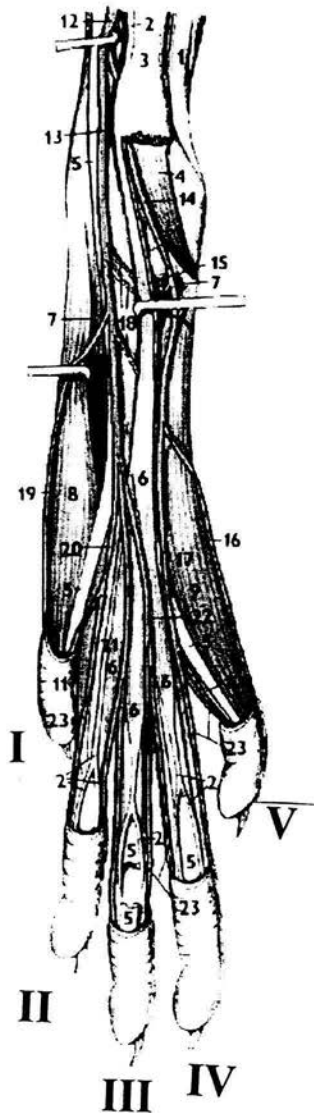
Se utilizaron ratas adultas (machos), de la variedad Wistar *Rattus norvegicus*, mantenida en un área adaptada **ex profeso** para ello en el laboratorio 11 del Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del CINVESTAV IPN, a cargo del Dr. Ismael Jiménez Estrada. Los animales se mantuvieron bajo condiciones ambientales de temperatura, humedad y ciclos de luz-obscuridad constantes y tuvieron libre acceso al agua y alimento (formula 5008, LabDiet).

### **2.-DISECCIÓN.**

Previamente al experimento los animales fueron anestesiados mediante la aplicación intra-peritoneal de ketamina (150 mg/kg peso, dosis inicial), y se administraron dosis adicionales de la mitad de la dosis inicial a intervalos regulares (1 hora), para mantener el nivel de la anestesia. Se utilizó Ketamina como anestésico debido a que este fármaco provoca una mínima depresión del reflejo monosináptico (Lodge y Anis, 1984; Tang y Schroeder, 1973).

El registro de los reflejos se hizo con el animal **in vivo**. Para lo cual la rata fue sujeta a una tabla de corcho por medio de alfileres insertadas en las extremidades superiores, mientras que las posteriores solo se sujetaron por medio de cinta adhesiva para evitar que los músculos plantares se dañaran.

La identificación y disección del nervio plantar se efectuó siguiendo las indicaciones anatómicas de Popesko (1992), y el resto de los nervios fueron seccionados exceptuando el nervio plantar, teniendo especial cuidado de no interrumpir la circulación sanguínea del área de registro (figura 3).



- 12-.nervio tibial
- 13-.nervio plantaris medialis
- 17-.nervio digitalis plantaris communis IV
- 18-.nervio metatarsi plantares
- 19-.nervio digitalis plantaris propius I medialis
- 20-.nervio digitalis plantaris comunis I
- 21-.nervio digitalis plantaris communis II
- 22-. nervio digitalis plantaris communis III
- 23-.nervios digitalis plantaris propil I-V digitos

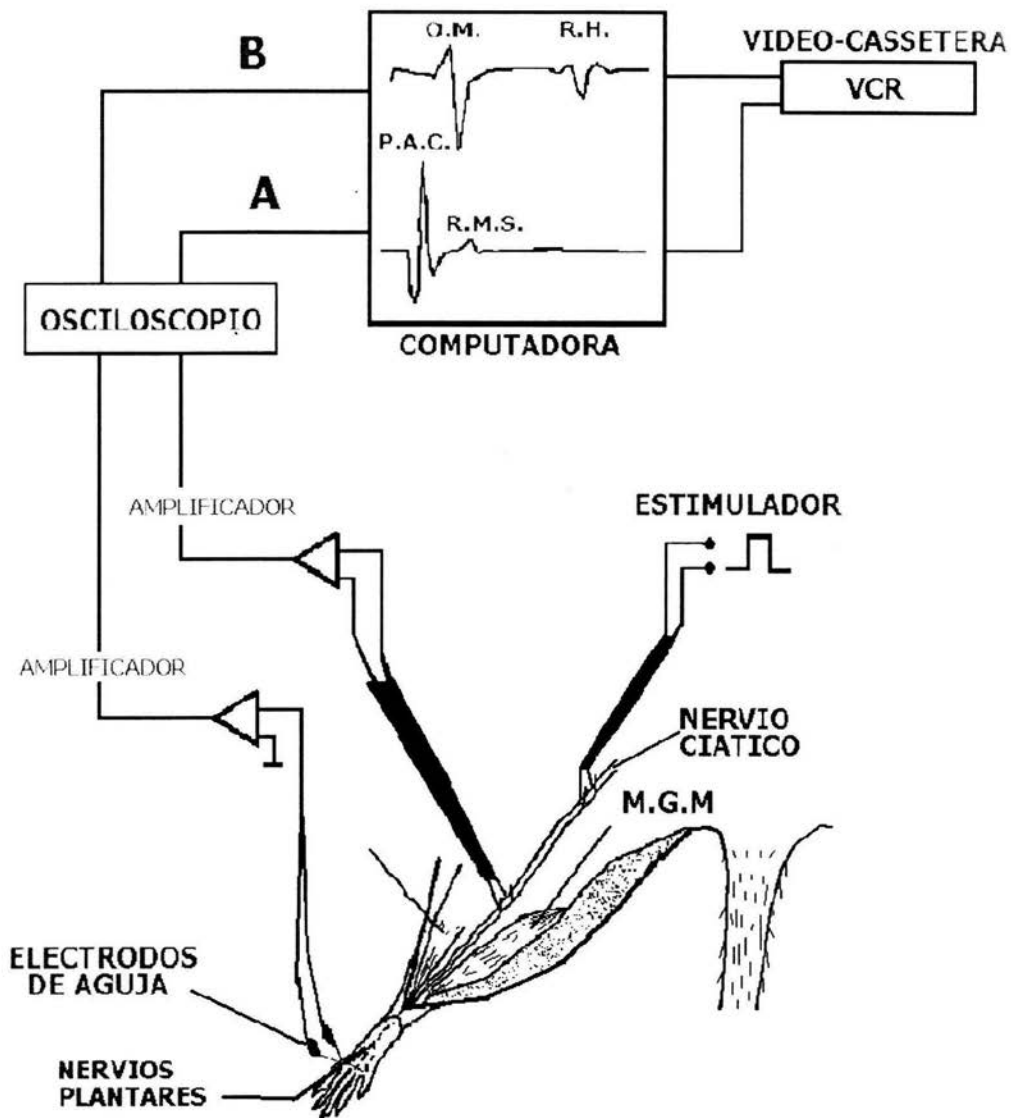
**Figura 3.** En el esquema se observa la disposición anatómica de los nervios y del músculo plantar de la rata adulta (Tomado y modificado de Popesko, 1992).

### **3-.REGISTRO DEL REFLEJO MONOSINAPTICO Y REFLEJO H.**

Para provocar las respuestas reflejas, se estimuló el nervio tibial con un par de electrodos de plata en forma de gancho, conectados a un generador de pulsos digitimer D4030, mediante el cual se aplicaron con intervalos de ocho segundos, pulsos de corriente eléctrica de intensidad variable.

Otro par de electrodos de gancho se utilizó para registrar la actividad electrofisiológica del nervio plantar, y fueron conectados a un pre-amplificador (Grass modelo P511), el cual a su vez estaba conectado a un osciloscopio Gould DSO 1624 (ORC), y a un sistema de video-grabación y a una computadora,

La actividad electromiográfica se registro sobre los músculos interoseos (localizados en la región plantar de las extremidades posteriores), para ello se insertó un par de electrodos de aguja sobre la superficie plantar de una de las extremidades posteriores entre el 4° y 5° dígito. Estos electrodos se conectaron a un pre-amplificador y a su vez, a la interfase que los comunica con el ORC, la video-cinta y la computadora (figura 4).



**Figura 4.** En el esquema se observan las conexiones utilizadas para los registros (A) P.A.C y del R.M.S, (B) onda M y el reflejo H, cada uno cuantificado independientemente por un programa realizado para ello ex profeso del laboratorio del Dr. Ismael Jiménez Estrada.



## ***PROTOCOLO EXPERIMENTAL***

### **A) DETERMINACIÓN DEL UMBRAL DE EXCITACIÓN.**

En primera instancia, se estableció la intensidad de estimulación umbral para generar una respuesta electroneurofisiológica en el nervio para ello se busco la respuesta electrofisiologica mínima del PAC, la cual fue determinada a partir de la estimulación aplicada al nervio ciático, con una intensidad promedio de 0.2 y 0.5 mV, en tiempo de un pulso cada 8 segundos. Una vez determinada la intensidad de estimulación ó umbral (U) se procedió a registrar por tiempo de 60 s. en cada serie experimental.

### **B) ESTIMULACIÓN CON INTENSIDADES CRECIENTES (VECES UMBRAL).**

Una vez encontrado el umbral de estimulación, se procedió a estimular al nervio ciático con pulsos cuya intensidad aumentaba gradualmente (con incrementos de 0.2 veces el valor umbral), hasta alcanzar 4 ó 5 veces el umbral de estimulación. La intensidad supramaxima, se obtuvo al momento de alcanzar la mayor amplitud del PAC, la cual fue constante, al menos en dos series registradas. Las respuestas generadas en cada una de las intensidades empleadas se registraron en forma individual durante 60 s.

**C) ANALISIS DE FLUCTUACIONES ESTIMULACIÓN**  
**SUPRAMAXIMA (1 f/8 seg) CONSTANTE DURANTE 60 MINUTOS.**

Posteriormente al registro de las respuestas electroneurográficas y electromiográficas provocadas por intensidades crecientes de estimulación, se procedió al análisis de las fluctuaciones, en la amplitud de las respuestas ante un estímulo de intensidad constante para ello, se emplearon estímulos de intensidad supramáxima a una frecuencia de 1 cada 8 segundos durante 60 – 90 minutos (450-675 eventos).

***4-. ANALISIS DE RESULTADOS.***

La amplitud de cada uno de los registros electroneurográficos y electromiográficos fue determinada, a partir de la medida directa de los trazos en el osciloscopio o mediante cursores del programa de computación, colocados en la línea basal y en el pico de cada señal y el factor de amplificación empleado para cada registro.

En el protocolo de estimulación con intensidad creciente, las respuestas generadas con cada una de las intensidades aplicadas fueron promediadas (n=16) y se determinó la amplitud de la señal promedio.

En el caso del protocolo de análisis de las fluctuaciones de las respuestas se determinó la amplitud de cada señal individual y posteriormente se calculó el promedio ( $\bar{x}$ ), la desviación estándar ( $\delta_n$ ) y el coeficiente de variación ( $\bar{x}/\delta_n$ ) de las respuestas.

A partir de los valores de amplitud de cada una de las respuestas, se construyeron gráficas que relacionaban la magnitud de la señal con la intensidad del estímulo y se les calculó el coeficiente de correlación ( $r$ ) correspondiente.

## **RESULTADOS**

### **1.- APLICACIÓN DE DIFERENTES INTENSIDADES EN NERVIIO CIATICO Y MUSCULOS PLANTARES DE LA RATA.**

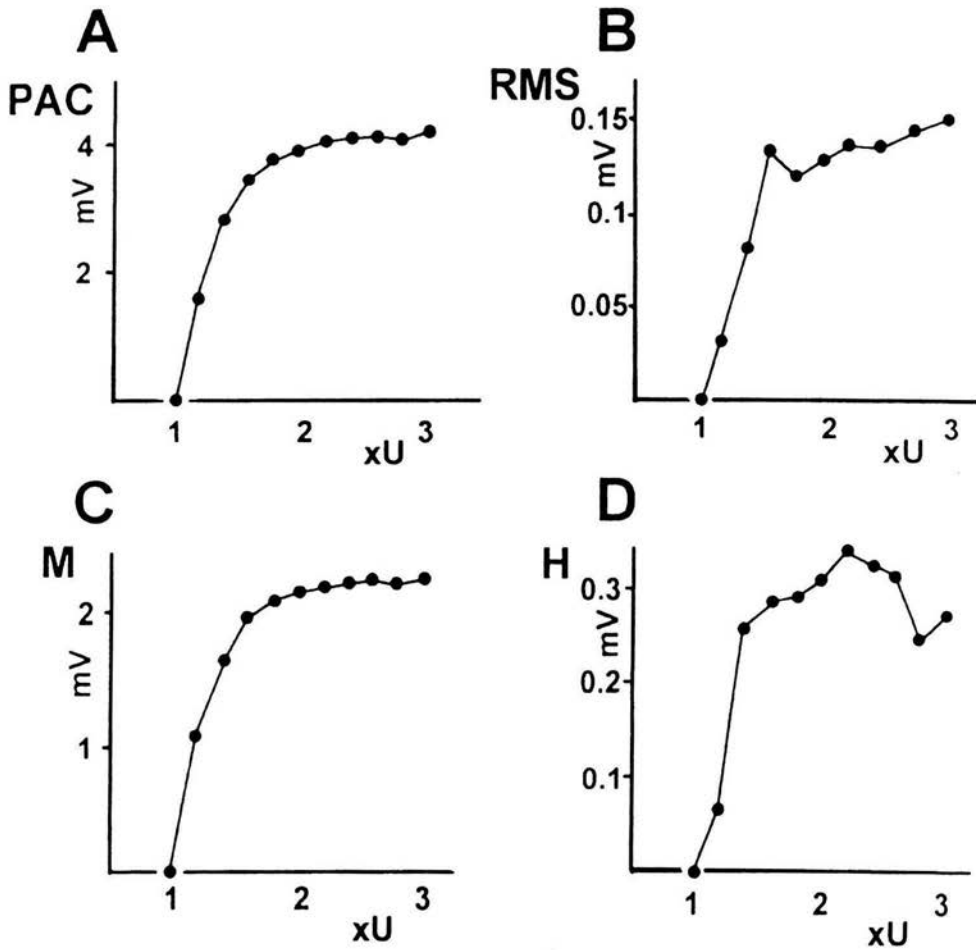
La respuesta eléctrica (electroneurograma; ENG) que se registra en el nervio plantar presenta dos componentes, el primero con latencia de 0.3-2 ms, corresponde al potencial de acción compuesto (PAC) que es generado por la excitación de los axones que constituyen al nervio mixto, y otro de mayor latencia (2-3 ms) que es el reflejo monosináptico (RMS), el cual es la respuesta refleja a la excitación de las motoneuronas por las vías aferentes (Ia) (Stanley, 1981; Rudomin, Jimenez y Enriquez, 1991).

Con respecto a la respuesta eléctrica que se registra en los músculos, (electromiograma EMG) presenta dos componentes, el primero de latencia corta (2-4 ms), denominado onda M, que corresponde a la activación directa de las fibras musculares por axones motores y en su generación no participa ningún circuito espinal; el segundo componente, de latencia más larga (8-12 ms), conocido como el reflejo H, es provocado por la excitación de las motoneuronas espinales cuyos axones provocan la actividad refleja registrada en el músculo (Magladery y Mcdougal, 1950; Mazzochio y cols 1995; Gozariu y cols, 1998).

#### **A) INTENSIDADES CRECIENTES DE ESTIMULACIÓN.**

La amplitud de las respuestas en el ENG (PAC y RMS) y en el EMG (OM y RH), fueron registradas aplicando al nervio tibial intensidades crecientes de estimulación, para ello se determino el umbral eléctrico (U). Una vez obtenido el valor de estimulación, la intensidad del estímulo se incremento,

gradualmente hasta 4 ó 5 veces (U), en cada paso se determinaron las amplitudes de las señales. En la figura 5 A-D, se ilustran las gráficas correspondientes a las amplitudes de los potenciales generados por distintas intensidades de estimulación en uno de los experimentos.



**Figura 5.** Gráficas de intensidades en un experimento, electroneurograma

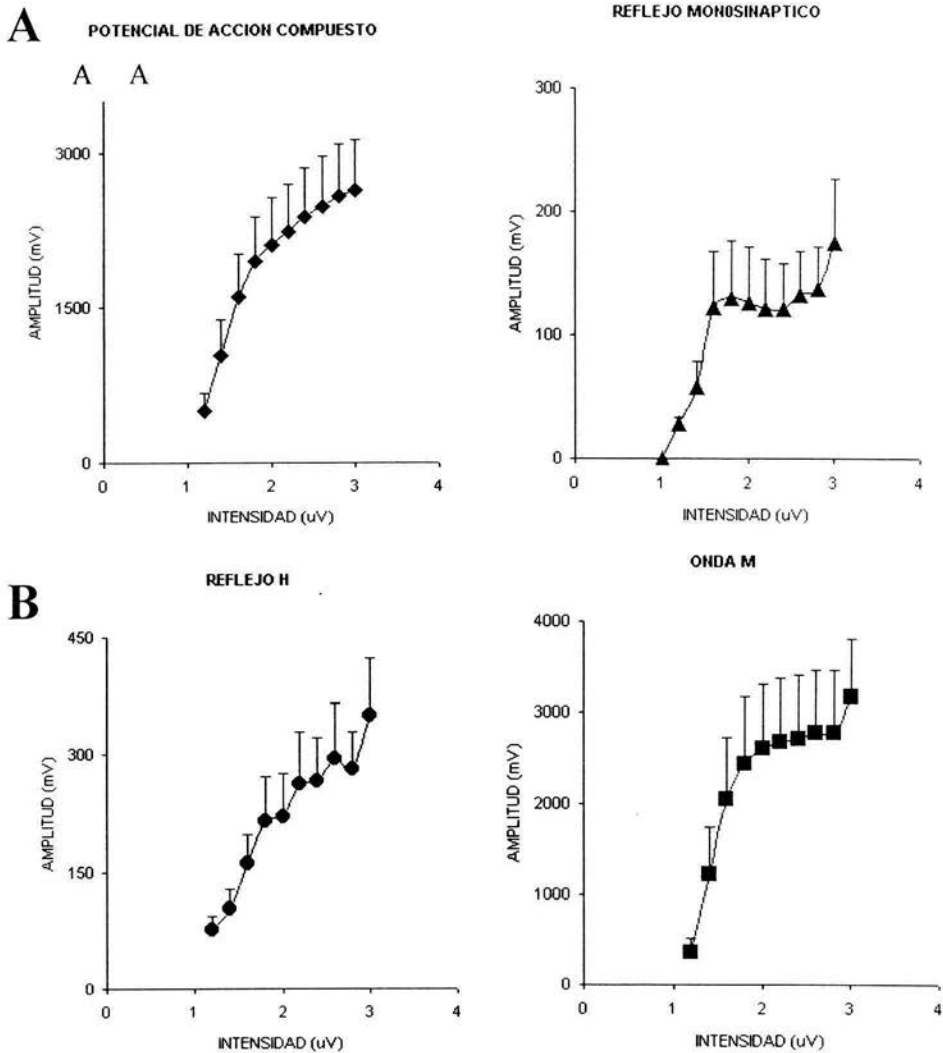
A) PAC, B) RMS; y electromiograma C) onda M, D) reflejo H

Como se puede observar en estas gráficas, las respuestas provocadas aumentaron de amplitud paulatinamente a medida que se incrementaba la intensidad del estímulo, alcanzando la máxima amplitud entre 2 y 3 veces umbral. La misma conducta se observa en otros 7 experimentos, cuyos valores promedio se ilustran en la tabla 1 y figura 6.

<b>INTENS.</b>	<b>ONDA M</b>	<b>REFLEJO H</b>	<b>P.A.C.</b>	<b>R.M.S.</b>
<b>1.2</b>	368.00 ± 151.47	77.30 ± 15.68	499.43 ± 182.12	28.28 ± 5.14
<b>1.4</b>	1213.64 ± 520	103.89 ± 24.76	1037.11 ± 345.51	59.13 ± 20.10
<b>1.6</b>	2049.98 ± 681.44	161.34 ± 36.54	1600.57 ± 415.30	122.34 ± 45.53
<b>1.8</b>	2445.74 ± 731.38	213.87 ± 58.35	1945.58 ± 435.82	129.95 ± 46.32
<b>2.0</b>	2616.52 ± 703.69	220.83 ± 55.40	2105.06 ± 452.89	126.28 ± 44.89
<b>2.2</b>	2685.56 ± 700	261.50 ± 68.18	2236.60 ± 462.81	121.31 ± 40.37
<b>2.4</b>	2704.98 ± 703.36	265.59 ± 56.62	2379.94 ± 476.05	121.01 ± 36.47
<b>2.6</b>	2786.23 ± 688.43	295.37 ± 70.75	2482.05 ± 478.95	132.62 ± 34.28
<b>2.8</b>	2774.16 ± 694.49	280.83 ± 47.81	2583.61 ± 498.61	137.99 ± 33.47
<b>3.0</b>	3170.48 ± 642.15	350.73 ± 72.87	2638.24 ± 487.08	174.63 ± 52.19

Tabla 1.-Amplitud del promedio del PAC y RMS registrado en el nervio tibial y de la OM y el RH registrados en músculos plantares, promedio ± error estandar para cada intensidad.

El aumento creciente de las respuestas electroneurográfica y electromiográfica, podría considerarse que resulta de la activación gradual de los elementos nerviosos y musculares que conforman las vías que generan los reflejos monosináptico y H. Esto es, la activación gradual de axones aferentes conduce a la excitación progresiva de un grupo de motoneuronas y de sus respectivas unidades motoras, lo que conduce a la generación del reflejo monosináptico, registrado en el nervio y al reflejo H registrado en el músculo respectivamente.

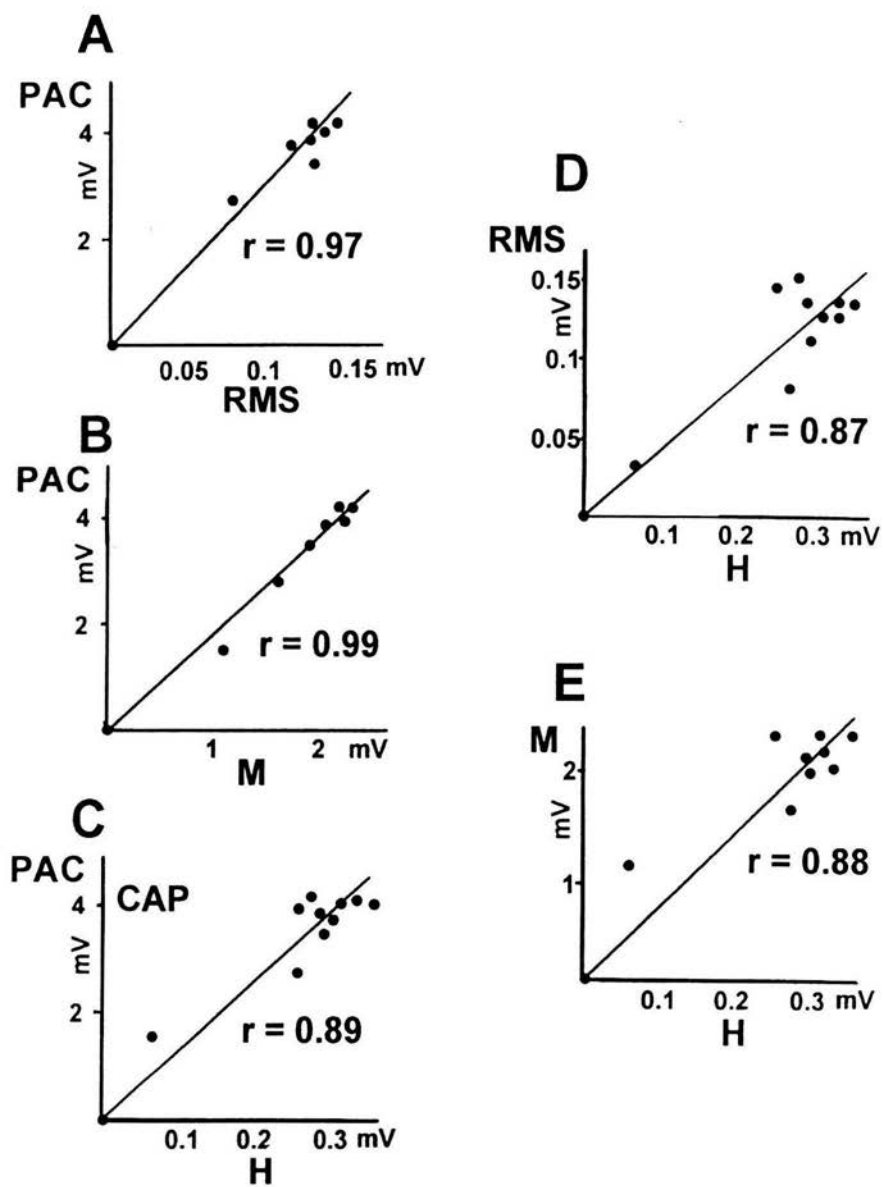


**Figura 6-** Amplitud promedio de las respuestas registradas en el nervio tibial (A) y en los músculos plantares (B), respuestas a la estimulación creciente. Se observa el reclutamiento de las fibras tanto nerviosas como musculares, así como la amplitud máxima alcanzada con estimulación supramáxima. Cada punto es el promedio de 8 experimentos, las barras verticales indican el error estándar.

Estas apreciaciones concuerdan notablemente con las advertidas por una considerable cantidad de investigadores (Somjen y Heath, 1966; Tavoricova y Sax, 1968; Perot y cols. 1994; Gozariu y cols. 1998; Meinck, 1976; Stanley, 1980; Voight y Sinkjaer, 1998; Nozaki y cols, 1998).

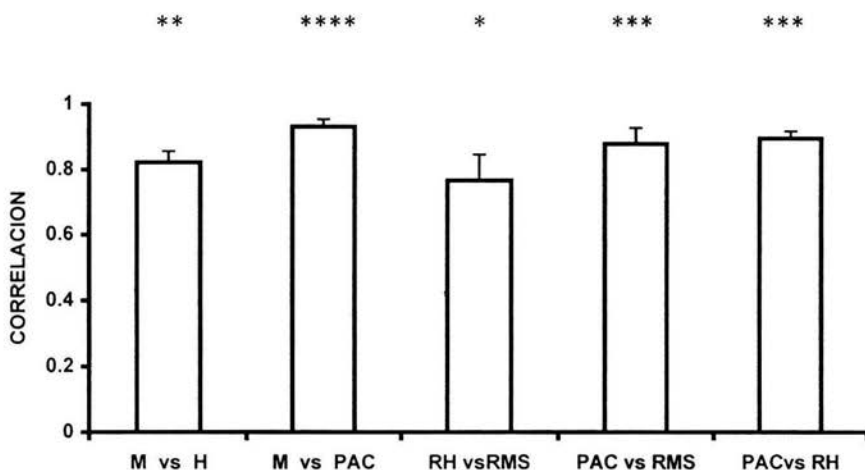
Por lo anterior y dado que todas las respuestas electroneurográficas y electromiográficas que se registraron en este estudio incrementan de amplitud en paralelo, a medida que aumenta la intensidad del estímulo, es de esperar que exista una estrecha relación entre ellas. Las gráficas de la figura 7, muestran las relaciones de las distintas respuestas ENG y EMG, obtenidas en un experimento con intensidad de estimulación creciente y se indican los valores del coeficiente de correlación ( $r$ ) correspondiente.





**Figura 7.** En las gráficas de intensidades observamos el coeficiente de correlación de las distintas relaciones en un experimento, A) PAC vs RMS, B) PAC vs oM, C) PAC vs H, D) RMS vs H y E) oM vs H.

Como se puede observar en tales gráficas, las amplitud de las respuestas registradas muestra una estrecha relación lineal y existe una gran correlación entre sí ( $r > 0.8$ ). Resultados similares fueron obtenidos en otros siete experimentos y el coeficiente de correlación promedio de los diversos pares de respuestas se ilustran en la figura 8 (también vease anexo 2).



**Figura 8-** Histograma del coeficiente de correlación a diferentes intensidades entre ENG (PAC y RMS) contra EMG (OM y RH), (t destudent, 0.50 sin correlación, 0.60 baja, 0.70 media \*, 0.80 alta \*\*, 0.85 alta-muy alta\*\*\*, 0.90 muy alta\*\*\*\*).

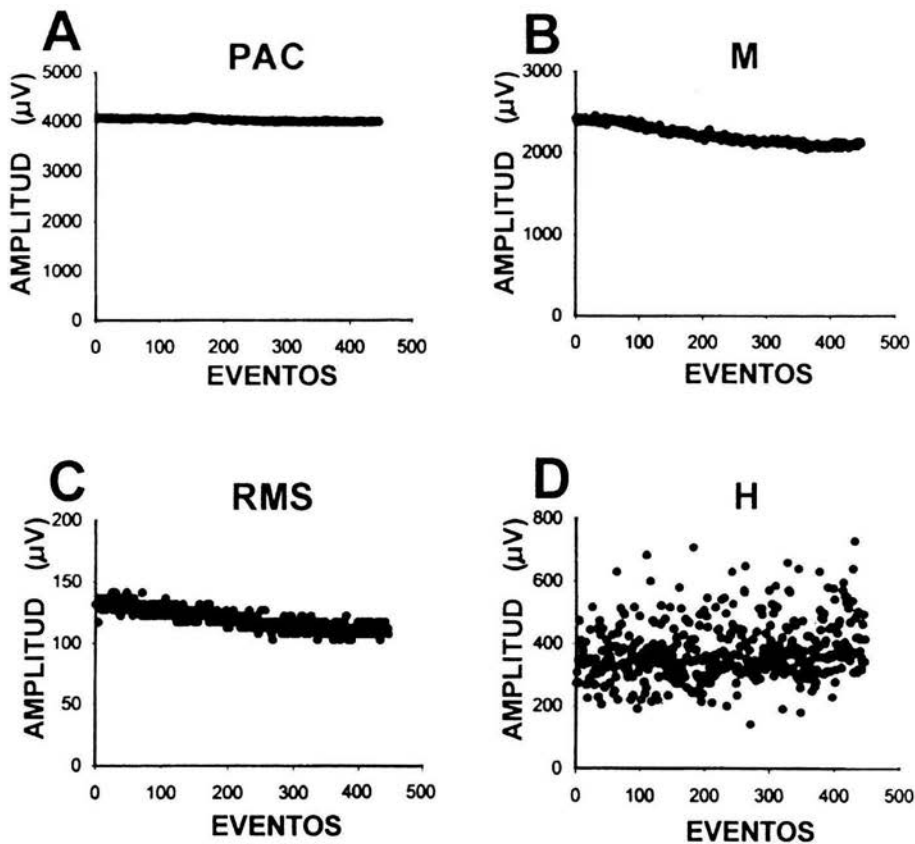
La notable correlación de las amplitudes de las diferentes respuestas analizadas, en particular aquella mostrada entre las respuestas reflejas, monosináptica y H, permite suponer que ambas son la manifestación de un

mismo proceso espinal consistente en la activación aferente de las motoneuronas y en consecuencia, de las unidades motoras correspondientes, lo que esta de acuerdo con lo reportado por una gran variedad de estudios experimentales y clínicos (ver: Gozariu et. al. 1998; Schindler y Shield, 2000).

## **B) ANÁLISIS DE FLUCTUACIONES.**

De los resultados obtenidos en la sección anterior podría considerarse que el tamaño de los reflejos, monosináptico y H, son un índice del número de motoneuronas o unidades motoras activadas, ante un estímulo de intensidad particular, de tal manera que podría suponerse que un cambio en la amplitud de tales respuestas sería una indicación de cambios en la excitabilidad de la vía refleja. Así mismo y dada la considerable correlación mostrada entre las amplitudes de los reflejos monosináptico y H podría suponerse que ambas respuestas mostrasen una variabilidad de igual magnitud y que estuviesen correlacionadas entre sí, esto es, si se presentase un incremento en la amplitud del reflejo monosináptico este se vería acompañado de un incremento proporcional en la amplitud del reflejo H.

Las gráficas A-D de la figura 9, muestran el comportamiento de la amplitud de cada una de las respuestas ENG (PAC y RMS) y EMG (onda M y reflejo H), registradas durante 60 minutos (1 estímulo c/8 segundos  $\Rightarrow$  450 eventos en la rata).



**Figura 9-** Gráficas de registro a intensidad supramáxima en tiempo de 1 hora (1 pulso cada 8 segundos  $\Rightarrow$  450 eventos), electroneurograma A) PAC, B) RMS, electromiograma C) onda M, D) H.

Como se puede apreciar en estas gráficas y en la tabla 2, el reflejo H (figura 9 D) varía aparentemente en mayor proporción que el resto de las respuestas (figuras 9 A-C). Sin embargo, en todos los experimentos realizados, el reflejo H mantiene un coeficiente de variación mayor que el del PAC y de la onda M, pero es notoriamente similar al del reflejo monosináptico.

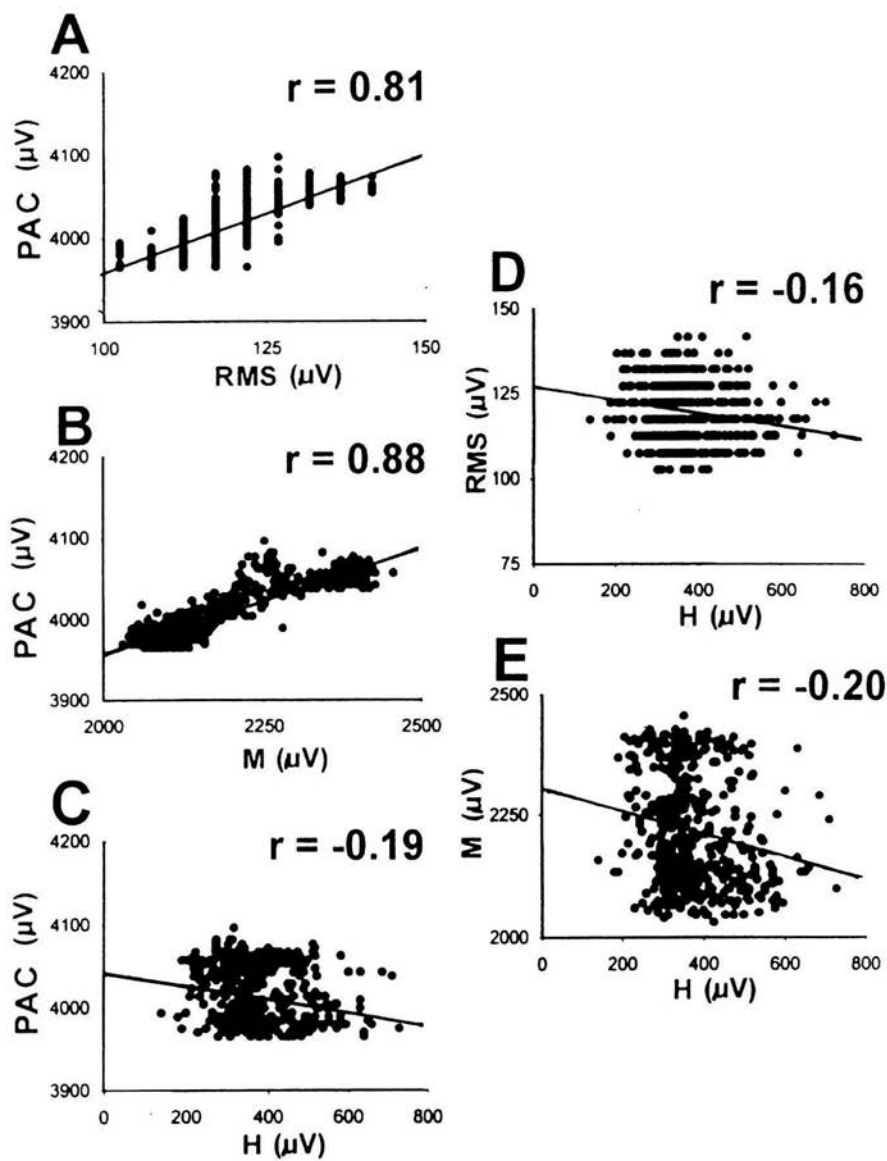
R	P.A.C	R.M.S	O.M	R.H
RC1	0.0832	0.2313	0.0271	0.1051
RC2	0.0814	0.2992	0.0293	0.1867
RC3	0.0282	0.1496	0.0103	0.2156
RC4	0.0085	0.1720	0.0321	0.2514
RC5	0.0532	0.2254	0.0322	0.2631
RC6	0.0532	0.5262	0.0155	0.1570
RC7	0.0296	0.5135	0.0220	0.2860
RC8	0.0075	0.5027	0.0135	0.1863
PROMEDIO	0.0612	0.2760	0.1628	0.2439

Tabla 2-. Coeficiente de variación para electroneurograma y electromiograma en registro de una hora, valores de cada experimento promedios.

Esto último, podría sugerir en primera instancia que ambas respuestas varían en la misma proporción, lo que abre la posibilidad de que ambas estén estrechamente correlacionadas. **IZT.**

La relación existente entre las amplitudes de las distintas respuestas electroneurográficas y electromiográficas, obtenidas en el mismo experimento se muestra en la figura 10.





**Figura 10.** Gráficas del coeficiente de correlación a intensidad supramáxima de cada una de las relaciones A) PAC vs RMS, B) PAC vs onda M, C) PAC vs H, D) RMS vs H y E) onda M vs H.

Como se puede apreciar en las gráficas A y B, los cambios en la amplitud del RMS y de la onda M, se encuentran estrechamente relacionados con las variaciones en la amplitud del PAC provocado. A diferencia de lo anterior, las variaciones en la amplitud del reflejo H con las fluctuaciones de amplitud del PAC (gráfica C), RMS (gráfica D) y onda M (gráfica E) no presentan relación alguna entre sí. Resultados similares fueron obtenidos en otros siete experimentos, cuyos valores promedio de correlación se ilustran en la tabla 3 y figura 11.

<b>R</b>	<b>OM vs RH</b>	<b>PAC vs OM</b>	<b>RMS vs RH</b>	<b>PAC vs RMS</b>	<b>PAC vs RH</b>
<i>RC1</i>	-0.087853	0.431532	0.3799425	0.870431	-0.234008
<i>RC2</i>	0.169763	0.141843	-0.056001	0.153439	0.123448
<i>RC3</i>	0.561902	-0.392315	-0.551496	0.512543	-0.764884
<i>RC4</i>	-0.018967	-0.294468	0.138577	0.590485	0.183363
<i>RC5</i>	0.212862	0.880536	0.216920	0.640085	0.254911
<i>RC6</i>	-0.025568	-0.058196	-0.044784	-0.916161	0.068585
<i>RC7</i>	0.004694	0.549966	-0.064310	0.241048	-0.014415
<i>RC8</i>	0.000456	-0.900188	-0.063331	0.123622	-0.062324
<i>PROM</i>	0.12 ± 0.28	0.21±0.62	0.015±0.24	0.39±0.54	0.011±.36

Tabla 3-. Se presenta el coeficiente de correlación para cada relación del ENG y EMG en intensidad supramaxima y registro de una hora, promedio ± desviación estandar.

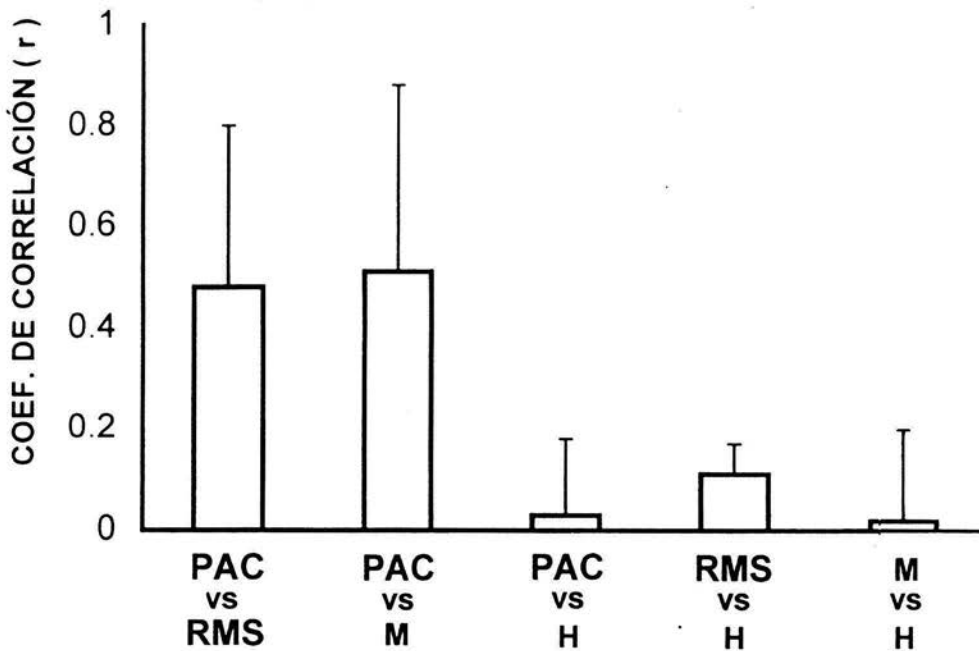


Figura 11-. Histograma de correlaciones a un intensidad supramáxima para ENG (PAC y RMS) y EMG (OM y RH), observe que la correlación entre las diferentes señales no es significativa en ninguno de los casos (Z de Fisher,  $P > 0.05$ ).

Conviene señalar que a pesar que el reflejo H poseé un coeficiente de variación similar al del reflejo monosinaptico, ello no es condición para que ambas respuestas esten correlacionadas entre sí, lo anterior permite proponer que ambas respuestas estan sujetas a diferentes procesos fisiológicos, que modulan las respuestas en forma independiente entre si.



## *DISCUSIÓN*

Dada la relativa facilidad con que puede registrarse el reflejo de Hoffman y puesto que es una técnica no invasiva que provoca pocas molestias en su aplicación, se ha utilizado ampliamente en una gran variedad de estudios experimentales o clínicos. Esta técnica electromiográfica ha sido empleada para evaluar la función motora de la médula espinal ante una gran variedad de condiciones fisiológicas y/o patológicas, por ejemplo, durante la ejecución de un movimiento determinado (Taborikova y Sax, 1966; Nozaki y cols, 1996; Cavallari y Lalli, 1998) o bien, como una manifestación de las alteraciones producidas por lesiones del cordón espinal (Shindler y Shields, 2000; Stanley, 1981; Thompson, 1992; Skinner, 1996) o de enfermedades neurodegenerativas como el mal de Parkinson (Shindler y Shields, 2000).

Es ampliamente aceptado que tanto el reflejo monosináptico como el reflejo H son una manifestación de la excitabilidad de las motoneuronas espinales (Magladery, 1955; Mazzochio y cols, 1995; Gozariu y cols, 1998), por lo que se ha considerado que entre ellos existe una muy estrecha relación funcional.

Nuestros resultados muestran que la estimulación del nervio ciático, con pulsos eléctricos de intensidad graduada y creciente es capaz de activar progresivamente a varios grupos de axones nerviosos, tanto aferentes como eferentes (provenientes de las motoneuronas), con distintos umbrales de excitación, los cuales provocan por un lado, la activación paulatina de neuronas espinales (interneuronas y motoneuronas) y por el otro, la excitación del músculo, respectivamente. Dado que al incrementar gradualmente la intensidad del estímulo, aumenta de manera proporcional la amplitud de las respuestas electroneurográfica y electromiográfica. y todas

ellas presentan una alta correlación entre sí, podría afirmarse la existencia de una estrecha relación entre ellas. La onda M y el reflejo monosináptico son el resultado de la activación de axones aferentes y eferentes, contenidos en el nervio ciático de los animales, mientras que el reflejo H se encuentra asociado a la generación del reflejo monosináptico. Lo anterior concuerda con lo establecido por Gozariu y colaboradores (1998), quienes muestran que ante la aplicación de un estímulo determinado se obtiene una respuesta refleja proporcional.

Esta aseveración, podría conducir a pensar que, en todas las ocasiones posibles se presenta una relación causal directa (uno a uno) entre las respuestas monosinápticas y el reflejo H. Sin embargo, tal posibilidad no ocurrió en este estudio, ya que nuestros resultados indican que a pesar de que ambos reflejos tenían similar variabilidad, las fluctuaciones no mostraban correlación alguna entre sí. En otras palabras cualquiera de las respuestas variaba de amplitud de manera independiente de la otra. Esta observación permite sugerir que la respuesta monosináptica y el reflejo H están sujetos a procesos fisiológicos diferentes que modulan su expresión. En el caso del reflejo monosináptico, podrían presentarse factores tanto presinápticos como postsinápticos que afectarían la excitabilidad de las motoneuronas (Rudomin et. al. Manjares, et. al. 2000, Gossard et. al. 1999), mientras que en el caso del reflejo H, la variabilidad podría depender no solo de los factores presinápticos y postsinápticos que inciden sobre las motoneuronas espinales, sino también de la dinámica probabilista de liberación del neurotransmisor (Acetilcolina) en la unión neuromuscular, la cual por sí misma, constituye un factor descorrelacionante importante de la actividad refleja muscular ( Sanes y Lichtman, 1999). También podría considerarse que la variabilidad del reflejo H resulta de la activación probabilística de unidades motoras de diversos

tamaños. Esto es, independientemente de la amplitud del reflejo monosináptico, la respuesta refleja muscular dependerá de la proporción de unidades motoras grandes, medianas o pequeñas que sean activadas. De ocurrir esto, el análisis del reflejo H adquiriría especial relevancia, debido a que no solo indicaría los cambios de excitabilidad de las motoneuronas espinales, sino también el tipo de unidad motora activada. Lo cuál requiere ser analizado con mayor profundidad.

Bajo las primicias anteriores, el presente trabajo podría servir de base para una gran variedad de estudios en donde se analice al reflejo monosináptico y al reflejo H con modelos experimentales de animales con alteraciones motoras, como lesiones espinales ó algunas otras enfermedades neurodegenerativas tal es el caso del Parkinson y debido a que su uso sea generalizado su uso en la clínica, por la facilidad de su registro. Con estos modelos experimentales se podrían observar anomalías del sistema nervioso en una etapa temprana de lesiones espinales o enfermedades neurodegenerativas.

## *CONCLUSIONES*

- 1) Se presenta una alta correlación entre la amplitud de las respuestas electroneurográfica y electromiográfica, cuando se produce un estímulo creciente en el nervio ciático.
- 2) La amplitud de la respuesta H es mayor que la del reflejo monosináptico.
- 3) Ante un estímulo determinado la amplitud y fluctuaciones del reflejo monosináptico y reflejo H son independientes, por lo que no se encuentra correlacionadas en un tiempo prolongado de registro.
- 4) Debido a la descorrelación que presenta ambos reflejos se han considerado dos posibilidades para explicar este fenómeno.
  - i) La descorrelación espinal probablemente sea un factor de activación de unidades motoras de diferente tamaño.
  - ii) Se asocia un factor periférico, que es la variabilidad en la transmisión sináptica de la unión neuromuscular.

## ANEXO 1

<b>R</b>	<b>OM vs RH</b>	<b>PAC vs OM</b>	<b>RMS vs RH</b>	<b>PAC vs RMS</b>	<b>PAC vs RH</b>
<b>RC1</b>	0.912628	0.96103	0.71487602	0.86644399	0.910742021
<b>RC2</b>	0.676181	0.88473	0.70505129	0.89794725	0.886951835
<b>RC3</b>	0.823455	0.933608	0.797040016	0.98591235	0.895663954
<b>RC4</b>	0.883123	0.970061	0.91767633	0.93153344	0.8985318
<b>RC5</b>	0.908965	0.974192	0.8704003	0.97805804	0.91646936
<b>RC6</b>	0.976419	0.944247	0.9855223	0.96119742	0.98552207
<b>RC7</b>	0.763938	0.946878	0.72967036	0.95104873	0.882032933
<b>RC8</b>	0.734627	0.0996976	0.89959306	0.89848144	0.987648079
<b>PROM</b>	0.834 ± 0.10	0.945±0.03	0.817±0.10	0.925±0.04	0.911±0.04

Tabla 1-. Correlaciones por intensidades promedios ± desviación estandar, para cada animal experimental.

## BIBLIOGRAFÍA

- \* Bell, C. (1811) *A new idea of the anatomy of the brain*. London.
- \* Burke, R. Rudomin, P. (1960) *Spinal neurons and synapses*. en: Handbook of physiology sec.1. The nervous sistem vol.1 part.2 pc:877-944.
- \* Cavallari, P. y Llali, S. (1998) *Change in excitability of hte flexor carpi radialis H-Reflex following tactile stimulation of the index fingertip*. Exp. brain res 120: 345-351.
- \* Cheng, j. Brooke, J. Misiarzek, J. Staines, W. (1998) *Crossed inhibition of the soleus H- Reflex during passive pedalling movement*. Brain res. vol.779:280-284.
- \* Cingolani, H. Houssay, A. (2000) *Fisiología de las fases reflejas del movimiento*. en Fisiología humana de Houssay. 7ª ed. Ateneo pc.915-936.
- \* Gozariu, M. Roth, V. Keime. Le Bars. Willer. (1998) *An electrophysiological investigation into the monosynaptic H reflex in the rat*. Brain res. Vol.782:343-347.
- \* Gossard, J. Bouyer, L. Rossignol, S. (1999) *The effects of antidromic discharges on orthodromic firing of primary afferents in the cat*. Brain res. 17; 825 (1-2): 132-145.
- \* Hall, M. (1833) *On the reflex function of the medulla oblongata and medulla spinalis*. Philosophic. Trans. Roy. Soc. lond. pc:123-635.
- \* Hunt, C. (1955) *Monosynaptic reflex response of spinal motoneurons to graded afferent stimulation*. J. gen physiol. 38:813-826.
- \* Hultborn , H. Meunier, S. Morin, C. Pierrot, D. (1987) *Assessing changes in presynaptic inhibition of Ia fibres: a study in man and the cat*. J Physiol (Lond) 389:729-756.

- \* Katz, b. (1966) *Nerve muscle and synapse*. University London. ed McGraw-Hill book Company, San Francisco pc: 9-16.
- \* Lodge, D. Anis, N. (1984) *Effects of ketamine and three other anesthetics on spinal reflexes and inhibitions in the cat*. Br. J. Anaesth 56:1143-1151.
- \* Mascher, B. Schlenke, P. Seyfarth, M. (1999) *Expression and kinetics of cytokines determined by intracellular staining using flow cytometry*. J Immunol Methods. 1; 223 (1): 115-121.
- \* Magendie, F. (1822) J. Physiol (cited by Sherrington).
- \* Magladery, J. (1955) *Some observations on spinal reflexes in man*. Pflügers Archiv. vol.261:302-321.
- \* Magladery, J. McDougal, D. (1950) *electrophysiological studies of nerve and reflex activity in man. Identification of certain reflexes in the electromyogram and the conduction velocity of peripheral nerve fiber*. Bull Johns Hopkins hosp. 86:265-290.
- \* Manjarez, E. Rojas-Piloni, J. Jimenez, I. Rudomin, P. (2000) *Modulation of synaptic transmission from segmental afferents by spontaneous activity of dorsal horn spinal neurones in the cat*. J. Physiol 1; 529, 2:445-460.
- \* Mazzocchio, R. Rothwell, J. Rossi, A. (1995) *Distribution of Ia effects onto human hand muscle motoneurons as revealed using an H-Reflex technique*. J. Of Physiology. vol.489.1:263-273.
- \* Meinck, H. M. (1976) *Occurrence of the H reflex and the F wave in the rat*. Electroencephalography and clinical neurophysiology. vol. 530-533.
- \* Ninomiya, J. (1991) *Organización funcional del sistema nervioso*. Fisiología humana neurofisiología. (ed) El manual moderno sa de cv. México pc: 1-103.

- \* Nozaki, d. Nakasawa, K. Yamamoto, Y. (1996) *Supraespal effects on the fractal correlation in human H Reflex*. Exp. brain res. vol.112:112-118.
- \* Perot, C. Almeida. Silveira. (1994) *The human H and T reflex methodologies applied to the rat*. *Journal of neuroscience methods*. vol.51:71-76.
- \* Popesko, P. (1992) *Anatomy of small laboratory animals*. Pp: 253.
- \* Rudomin, p. Dutton, H. (1968) *The effects of primary afferent depolarization on excitability fluctuations of Ia terminals within the motor nucleus*. *Experientia*. 24:48-50.
- \* Rudomin, p. Dutton, H. (1969) *Effects of muscle and cutaneous afferent nerve volleys on excitability fluctuations of Ia terminals*. *J. Neurophysiol*. 32:158-169.
- \* Rudomín, P. Madrigal, J. (1972) *Changes in correlati3n between monosynaptic responses of single motoneurons and in information transmissi3n produced by conditioning volleys to cutaneous nerves*. *J. Neurophysiol*. 35: 44-64.
- \* Rudomin, P. Jimenez, I. and Enriquez, M. (1991) *Effects of stimulation of group Ia afferents from flexor muscles on heterosynaptic facilitatio of monosynaptic reflexes produced by Ia and desending inputs: a test for presynaptic inhibition*. *Exp. brain res*. vol. 85:93-102.
- \* Ruch, T. Patton, H. Walter, J. Towe, A. (1965) *Neurophysiology* secc.III cap.6 Whasintong D. C.
- \* Sanes, J. Lichtman, J. (1999) *Development of the vertebrate neuromuscular junction*. *Annu. rev. neurosci*. 22:389-442.



- \* Schindler, S. y Shields, R. (2000) *Low frequency depression of the H-Reflexes in humans with acute and chronic spinal-cord injury*. Exp. brain res. vol.133:233-241.
- \* Setschenov. (1863) *J. Physiologische studien uver die hemmnungs mechanism fur die reflex thatiskeit des ruckenmarkes in gerhirn des frosches*. Hirschwald Berlin.
- \* Skinner, R. Houle, J. Reese, N. Berry, C. Garcia-Rill, E. (1996) *Effects of exercise and fetal spinal cord implants in the H-reflex in chronically spinalized adult rats*. Brain res. 729:127-131.
- \* Smith, C. (1986) *Neurophilosophy toward a unified science of the Mind-Brain*. (ed) The MIT press. Cambridge. 546.
- \* Somjen, G. Heath, J. (1966) *Covariation of monosynaptic reflexes in spinal and decerebrate cats*. Exp. neurology 15:79-94.
- \* Stanley, E. F. (1981) *Sensory and motor nerve conduction velocities and the latency of the H reflex during growth of the rat*. Exp. neurology. vol.71:497-506.
- \* Solodkin, Muñoz-Martinez, Jimenéz. (1998) *Sistema nervioso*. en Fisiología, células, órganos y sistemas. u.X tomo.v (ed) Científicas universitarias, México pc: 199-217.
- \* Tábořiková, and Sax. (1968) *Motoneuron pool and the H reflex*. J. Neurol neurosurg psychiat. vol. 31:354-361.
- \* Tang, A. Schroeder, L. (1973) *spinal-cord depressant effects of ketamine and etoxadrol in the cat and the rat*. Anesthesiology 39:37-43.

\* Thompson, J. Reier, P. Lucas, C. Parmer, R. (1992) *Altere depatterns of reflex excitability subsequent to contusión injury of the rat spinal cord*. J. of Neurophysiology. 68:5: 1473-1486.

\* Voigt, M. Sinkjaer, T. (1998) *The reflex in the passive human soleus muscle is modulated faster than predicted from post-activation depression*.

Brain res. 783:332-346.