



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA, BIOFÍSICA Y NEUROCIENCIAS

**“Modelo neuronal realista del generador central de patrones
(CPG) durante el reflejo estereotipado de corrección del tropiezo
en el gato adulto”**

TESIS

Que presenta

Ing. Biomédico Héctor Pérez Rubio

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

En la especialidad de

NEUROBIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR

Directores de tesis

Dr. Jorge Noel Quevedo Durán

Dr. Adrián Octavio Ramírez Morales

Ciudad de México

agosto, 2024

Agradecimientos y dedicatoria

Durante el desarrollo del presente opúsculo, el autor fue estudiante de maestría del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, CINVESTAV en el Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias; además de recibir apoyo económico por parte del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías, CONAHCyT, y a los cuales hace patente su agradecimiento.

Al Dr. **Jorge Quevedo**, por su apoyo y tiempo dedicado en la realización del presente proyecto, por sus múltiples enseñanzas, y por darme la oportunidad de pertenecer a su grupo de trabajo.

Al Dr. **Adrián Ramírez**, por sus consejos y recomendaciones durante el inicio de mi maestría, así como por sus enseñanzas que siempre transmite con buen humor.

A **Jorge Calvo** y todo el *staff* del laboratorio, por su profesionalismo y empeño constante en el trabajo del laboratorio, procurando que nunca nos falte nada, y su gran compañerismo.

A mis sinodales, al Dr. **Ismael Jiménez** y a la Dra. **Carmen Vivar**, por sus excelentes comentarios que enriquecieron el presente escrito.

A mis **amigos** del Cinvestav, por los buenos y no tan malos momentos que vivimos juntos; y a mi **novia** por ser la más consentidora y cariñosa para conmigo.

A mis **padres** y **hermanos**, por su amor incondicional. Ustedes son una parte trascendental en mi vida y los llevo conmigo a todos lados.

Tabla de contenido

Resumen	1
Abstract	2
1. Introducción	3
1.1 Generalidades sobre la locomoción	3
1.2 Modelos del Generador Central de Patrones (CPG) de la locomoción basados en la hipótesis de los hemicentros de Graham Brown	6
1.3 Neuronas candidatas del Generador Central de Patrones	12
Modelo de Hodgkin y Huxley (HH)	15
Modelo de Fitzhugh-Nagumo	17
Modelo de Izhikevich	19
1.5 Modulación sensorial del patrón locomotriz en los mamíferos	22
1.6 Reacción de corrección del tropiezo.....	24
2. Planteamiento del problema	30
3. Pregunta de investigación	31
4. Hipótesis	31
5. Objetivos	31
Objetivo general	31
Objetivos particulares.....	31
6. Métodos	32
7. Resultados	37
7.1 Simulación de un CPG de dos niveles	37
7.2 Modelo neuronal de la articulación del tobillo para la reacción de corrección del tropiezo.....	40
7.3 Simulación de la reacción de corrección del tropiezo considerando las vías neuronales propuestas	42
7.4 Simulación de la reacción de prevención del tropiezo considerando las vías neuronales propuestas	44
8. Discusión	45
9. Conclusiones	49
10. Perspectivas	49
12. Apéndices	a
12.1 Funciones, pesos sinápticos y parámetros biofísicos	a
12.2 Diagramas de flujo de programa	A

Resumen

Se ha demostrado que la médula espinal es capaz *per se* de generar la actividad locomotriz por medio de una red neuronal especializada, denominada Generador Central de Patrones (CPG), que está conformado por dos poblaciones de neuronas excitadoras, denominadas hemicentros (uno flexor y otro extensor), que se inhiben recíprocamente. Esta red puede ser modulada por aferencias supraespinales y por la información sensorial propioceptiva y cutánea, para ajustar el patrón locomotriz ante los distintos entornos.

El presente trabajo se enfocó en el modelado realista del CPG y la modulación producida por la estimulación del nervio cutáneo peroneo superficial (SP), que produce un reflejo espinal estereotipado conocido como Reacción de Corrección del Trepiezo.

El CPG se simuló computacionalmente, a partir de las ecuaciones deterministas de Hodgkin y Huxley, incorporando las propiedades biofísicas de las neuronas e incluyendo conductancias ritmogénicas, y considerando una arquitectura de dos niveles; *i.e.* una red generadora del ritmo y una red formadora de patrones.

En el modelo, se incorporaron las vías neuronales involucradas en la reacción de corrección del tropiezo, caracterizadas a partir de las latencias de los EPSPs e IPSPs, registrados en motoneuronas de diferentes músculos al estimular el nervio SP durante la locomoción ficticia en el gato descerebrado.

Con base en las interneuronas excitadoras e inhibitoras propuestas, se simuló su patrón de actividad en condiciones control y durante estimulación del nervio SP. Para este fin, se ajustaron los pesos sinápticos, la excitación generada por las terminales sinápticas del SP, así como la excitabilidad de las motoneuronas, y se agregaron interneuronas y conexiones hipotéticas con la red del CPG.

El perfil de activación de las neuronas simuladas en el modelo servirá de referencia para la identificación y clasificación de las interneuronas involucradas en la reacción de corrección del tropiezo registradas experimentalmente con anterioridad.

El desarrollo de modelos computacionales cada vez más robustos es fundamental en las neurociencias para un estudio más integral de fenómenos tan relevantes como la locomoción.

Abstract

It has been shown that the spinal cord is capable *per se* of generating locomotor activity through a specialized neuronal network, named Central Pattern Generator (CPG), which is made up of two populations of excitatory interneurons, called half-centres (one for flexion and one for extension), reciprocally inhibited one to each other. This network can be modulated both by supraspinal inputs and proprioceptive and cutaneous sensory feed-back, so as to adjust the locomotor pattern to different environments.

The present work aimed to develop a realistic model of the CPG for locomotion and the modulation produced by the stimulation of the superficial peroneal cutaneous nerve (SP), which triggers a stereotyped spinal reflex known as the Stumbling Correction Response.

The CPG was computationally simulated based on the deterministic equations of Hodgkin and Huxley, taking into account the biophysical properties and rhythmogenic conductances of neurons, and considering a two-level architecture, *i.e.* a rhythm-generating and a pattern formation network.

The neural pathways involved in the stumbling correction response were added to the model. These pathways were characterized from the latencies of EPSPs and IPSPs, recorded in hind-limb motoneurons innervating different muscles by the stimulation of the SP nerve during fictive locomotion in the cat.

Based on the proposed excitatory and inhibitory interneurons, we simulated the activity pattern of these interneurons in control conditions and during SP nerve stimulation. To this end, we adjusted the synaptic weights, the drive generated by the SP synaptic terminals, as well as the excitability of the motoneurons, and added interneurons and hypothetical connections with the CPG network.

The activity pattern of the interneurons simulated in the model will help to identify and classify the interneurons involved in the stumbling correction response previously recorded experimentally.

The development of powerful and robust computational models is fundamental in neuroscience for a more comprehensive understanding of relevant phenomena, such as locomotion.

1. Introducción

1.1 Generalidades sobre la locomoción

La locomoción y las diferentes formas de movimiento existentes en los animales vertebrados han fascinado a muchos investigadores a lo largo del tiempo por la forma tan conservada en que aparecen en diferentes especies, pues de estos movimientos depende su sobrevivencia; bien sea para buscar alimento, huir del peligro, migrar, etc. (Kiehn y Dougherty, 2013). Entre los movimientos estereotipados más comunes de algunos animales se encuentra el vuelo, el nado, la marcha y la reptación. Si bien es cierto que las diferencias morfológicas y biomecánicas entre animales es variada, el elemento prístino que procura y resguarda esos movimientos cíclicos y alternados (*i.e.* estereotipados) se localiza centralmente en la médula espinal (Brown, 1911).

En los animales vertebrados superiores, la actividad locomotriz está controlada por el sistema nervioso central (SNC), el cual contiene diferentes estructuras encargadas de planear, iniciar, corregir y comparar la actividad locomotriz ejecutada (Kandel *et al.*, 2021), entre las que se destacan (Figura 1):

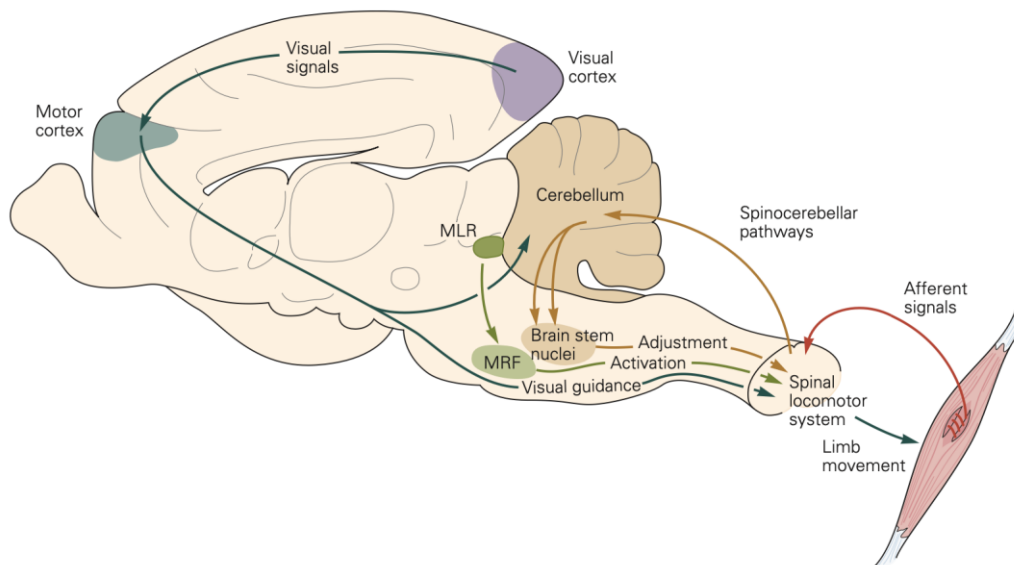


Figura 1. Principales estructuras del SNC involucradas en la locomoción. La corteza visual envía la información a la corteza motora para planear y ejecutar *motu proprio* el movimiento, la cual manda sus proyecciones hacia la médula espinal, directamente o mediante relevos en el tallo cerebral. Los ganglios basales, la MLR (región locomotriz mesencefálica), el cerebelo y los núcleos del tallo cerebral se encargan de modificar el movimiento planeado y ejecutado. La médula espinal se encarga de activar los músculos para generar el movimiento, y recibe retroalimentación sensorial periférica. Tomada de Kandel *et al.* (2021).

- **La corteza cerebral:** Las estructuras corticales contribuyen esencialmente a la planeación y ejecución del movimiento (corteza motora) de acuerdo con el contexto; por ejemplo, dependiendo de la información visual recibida (corteza visual).
- **Los ganglios basales:** Son núcleos profundos en el prosencéfalo capaces de controlar el movimiento por medio de tres vías neuronales principales: la vía directa que promueve el movimiento; la vía indirecta que disminuye el rango de movimiento y la vía hiperdirecta responsable de ejecución rápida de los movimientos.
- **La MLR:** Conocida como Región Locomotriz Mesencefálica, es capaz de iniciar y mantener la locomoción. Sus eferencias proyectan hacia la formación reticular en el tallo cerebral, y la estimulación eléctrica gradual modula la velocidad de la locomoción.
- **El cerebelo:** Su función principal es la corrección del movimiento comparando el movimiento planeado enviado a la médula espinal con el movimiento ejecutado a través de la retroalimentación sensorial propioceptiva y cutánea.
- **La médula espinal:** Recibe e integra la información de estructuras supraespinales y sensoriales, y envía el comando motriz, *via* las motoneuronas, hacia los músculos para ejecutar el movimiento.

A nivel espinal, las aferencias sensoriales ingresan a la médula por el asta dorsal, y las eferencias emergen del asta ventral hasta la placa neuromuscular para activar los músculos. Tanto las aferencias periféricas como supraespinales modulan la actividad de redes neuronales propioespinales, regulando la actividad de las motoneuronas, que son consideradas como la vía final común del SNC, que controla la conducta motriz (ver Sherrington, 1906; Kandel *et al.*, 2021).

La locomoción está caracterizada por una serie de acontecimientos que bien pueden resumirse al estudiar la secuencia de la actividad cinemática y electromiográfica en una extremidad, durante el ciclo de un paso completo. Por ejemplo, en el gato, este ciclo comienza cuando la pata entra en contacto con el piso por un tiempo (fase de apoyo o *stance*) y después se eleva y se lleva hacia adelante (fase de balanceo o *swing*). Estas dos fases, a su vez, se subdividen para un estudio más detallado. El balanceo inicia con la flexión (F) de todas las articulaciones (cadera, rodilla y tobillo). Posteriormente, el tobillo y la rodilla comienzan a extenderse (E1) aproximándose al piso, mientras que la cadera continúa flexionándose. Una vez que la pata toca el piso inicia la fase de apoyo; periodo en el cual la rodilla y el tobillo son

flexionadas pasivamente durante la recepción del peso o *weight acceptance* (E2). En la última fase (E3) todas las articulaciones se extienden para propulsar el cuerpo hacia adelante e iniciar nuevamente la flexión (F), y con ello la repetición del ciclo locomotriz (ver Philippon, 1905 y Rossignol, 1996).

Para el estudio de la locomoción se han utilizado diferentes tipos de preparaciones, fundamentalmente de felinos y roedores, tanto *in vivo* como *in vitro*. Estas preparaciones han permitido dilucidar y entender cómo participan de manera organizada las estructuras supraespinales, las redes neuronales espinales, la información sensorial propioceptiva y las motoneuronas, así como el sistema músculo esquelético, para producir movimientos de las extremidades acordes a con los entornos dinámicos a los que se encuentra expuesto el organismo (Rossignol, 1996).

Entre las estrategias más comunes para inducir la locomoción está la estimulación eléctrica de la MLR (Figura 1) con intensidades graduadas, provocando primeramente un cambio de postura para luego iniciar la locomoción. Además, el incremento en la intensidad de estimulación aumenta la frecuencia del ritmo locomotriz en las extremidades posteriores; llevando el patrón de caminata a trote y finalmente a galope (Mori *et al.*, 1989). Otra estructura supraespinal relevante es el núcleo paragigantocelular lateral (LPGi) del bulbo raquídeo, que es un relevo de la MLR hacia la médula espinal, y permite la locomoción a velocidades altas (Capelli *et al.*, 2017).

Por otro lado, la secuencia del patrón locomotriz puede examinarse registrando los electroneurogramas (ENGs) en las raíces ventrales de la médula espinal lumbar, o en nervios musculares específicos, mediante el uso de fármacos neuromoduladores. Entre ellos se encuentran el *N-Metil-D-Aspartato* (NMDA), la serotonina (*5-hidroxitriptamina* «5-HT»), la dopamina o su precursor (*L-metil-dihidroxifenilalanina* «L-DOPA»), que aplicados directamente sobre la médula espinal aislada de roedores neonatos, es posible generar locomoción ficticia (en ausencia de movimiento), en la cual es evidente una actividad alternada y rítmica en los ENGs de las raíces ipsi- y contralaterales (Figura 2) (Kudo y Yamada, 1987; Kjaerulff y Kiehn, 1996; ver Kiehn y Butt, 2003).

1.2 Modelos del Generador Central de Patrones (CPG) de la locomoción basados en la hipótesis de los hemicentros de Graham Brown

Hace más de un siglo, Graham Brown (1911) postuló que la secuencia rítmica del patrón locomotriz puede generarse intrínsecamente a nivel espinal sin la participación de la información sensorial periférica ni por la influencia de estructuras supraespinales, ya que era posible obtener una actividad similar a la locomoción en animales desaferentados y espinalizados; *i.e.* la médula espinal *per se* era capaz de generar la actividad locomotriz. En contraposición Sherrington (1910) postuló que la locomoción se producía por la combinación de múltiples reflejos espinales, es decir, que la información sensorial era imprescindible para su generación (ver más adelante).

De las observaciones e hipótesis de Graham Brown (1911) se ha planteado la idea de dos grupos de interneuronas excitadoras (denominados *half-centres* o hemicentros), que se inhiben recíprocamente entre sí. Estos hemicentros proveen la ritmicidad alternante y controlan una red neuronal compleja encargada de organizar la activación de músculos agonistas y antagonistas (flexores y extensores) en las extremidades (McCrea y Rybak, 2008). La red neuronal capaz de producir los distintos patrones motrices a nivel espinal se conoce como Generador Central de Patrones (CPG, *Central Pattern Generator*), acuñado por primera vez por Grillner (1975). Con ello en mente, muchos investigadores han tratado de dilucidar la identidad y localización anatómica de estas interneuronas.

De modo que, para localizar con mayor precisión las interneuronas del CPG se han realizado secciones espinales a distintos niveles, registrando las raíces ventrales o nervios para evidenciar la locomoción producida. Se llegó al consenso de que los elementos neuronales encargados de mantener el ritmo y controlar la activación de músculos en las extremidades posteriores se encuentran en la porción lumbar rostral de la médula espinal. Además, se demostró que, la capacidad ritmogénica de la región lumbar se encuentra distribuida como un gradiente rostro-caudal y dorso-ventralmente (ver Kiehn, 2006; Kiehn y Butt, 2003); por lo menos sus componentes más básicos. Consecuentemente, para la locomoción de las extremidades anteriores, las redes neuronales se localizan en la intumescencia cervical.

Algunos de estos hallazgos fueron demostrados por Kjaerulff y Kiehn (1996), quienes empleando una preparación de la médula espinal aislada de la rata neonata (desde T12 hasta L6), indujeron locomoción ficticia con 5-HT y NMDA, registrando la actividad electroneurográficamente en las raíces ventrales L2 y L5 (tanto izquierdas como derechas) (Figura 2). Al efectuar cortes a diferentes niveles, demostraron que la zona más eficaz para producir locomoción se encontraba en la región ventromedial del núcleo intermedio, cerca del canal central (entre las láminas VII, VIII y X). A nivel rostrocaudal, la región más ritmogénica se localizó entre los segmentos T13 y L2.

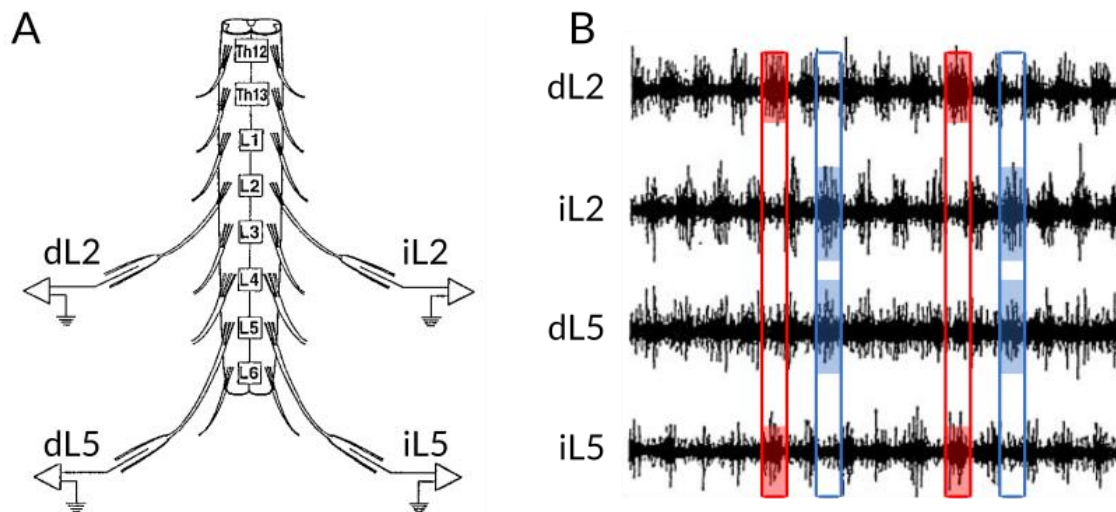


Figura 2. Locomoción ficticia evocada por fármacos en la médula espinal aislada de la rata neonata. A) Muestra las raíces ventrales registradas: L2, Lumbar 2 y L5, Lumbar 5; i, izquierda y d, derecha. **B)** ENGs crudos de la actividad locomotriz producida por la aplicación de 5-HT y NMDA. La actividad en las raíces L2 está relacionada con la flexión y en las raíces L5 con la extensión. Nótese la alternancia entre las raíces flexoras (dL2 – dL5) y extensoras (iL2 – iL5) y entre las raíces derechas e izquierdas (dL2 – iL2; dL5 – iL5). Modificada de Kjaerulff y Kiehn (1996).

Si bien, el CPG se organiza como una red distribuida a lo largo de la médula espinal, ello no implica que todos sus componentes tengan la misma preponderancia para la función adecuada en la generación locomotriz; ya que Cazalets (2005) demostró que existía una red distribuida que permitía la propagación de la actividad locomotriz bidireccionalmente y a distintas velocidades; *e.g.*, cuando la actividad rítmica espontánea surge en segmentos torácicos rostrales su propagación hacia niveles coccígeos es más rápida en comparación con la actividad rítmica que inicia en los segmentos sacrococcígeos, que se propaga más lentamente en dirección rostral, *i.e.* la mayor velocidad de propagación ocurre en dirección rostrocaudal.

Del mismo modo, este grupo también demostró que la propagación no siempre es el resultado de la activación de circuitos intersegmentales proximales, sino que el acople del ritmo también se da gracias a vías neuronales que proyectan a segmentos más alejados; con la finalidad de mantener coordinación axial e intersegmental en toda la médula espinal (Figura 3).

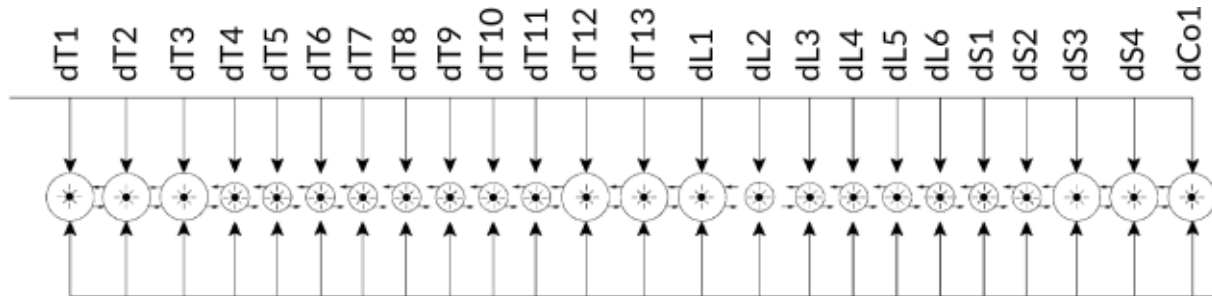


Figura 3. Organización de conexiones neuronales rostrocaudales propioespinales en la médula espinal aislada de la rata neonata desde T1-Co1 derechas. Los círculos más grandes representan las zonas con actividad motora espontánea más activa y en donde ésta se inicia preferencialmente. Las flechas que corren rostral- (hacia T1) y caudalmente (hacia Co1) representan las interneuronas locales que comunican segmentos contiguos y las flechas paralelas de mayor tamaño corresponden a las fibras que proyectan hacia segmentos más alejados. Modificada de Cazalets (2005).

A partir de los hallazgos electrofisiológicos de las zonas más ritmogénicas en la médula espinal, se ha ido revelando la posible ubicación anatómica de las neuronas generadoras del ritmo (*i.e.* la localización del CPG).

Aunque la actividad ENG registrada en raíces ventrales L2 está asociada preponderantemente con la flexión y la de las raíces ventrales L5 con la extensión (Kjaerulff y Kiehn, 1996), los patrones de actividad muscular durante la locomoción real son más complejos. En el caso de los músculos que tienen una función dual, *i.e.* bifuncionales, pueden activarse durante la flexión y la extensión, o durante la transición de ambas fases, dependiendo de la tarea motriz o de las articulaciones donde se inserten (Rossignol, 1996). La existencia de músculos bifuncionales permite patrones de actividad más complejos que una simple alternancia entre flexión y extensión (Perret y Cabelguyen, 1980).

Para que la red de neuronas espinales sea capaz de generar una gran variedad de patrones motrices en los músculos que operan todas las articulaciones de una extremidad, Grillner (1981) propuso un modelo que explica la configuración de esta red. Este modelo supone que el total de patrones locomotrices resultan de la actividad combinada de diferentes unidades

generadoras de ráfagas (*Unit Burst Generator, o UBG*), en donde cada unidad (o módulo) por separado, es capaz de controlar subgrupos de motoneuronas para cada articulación; logrando una activación secuencial más fina de los músculos de la articulación, apropiada para tareas motrices específicas en el momento adecuado (Figura 4).

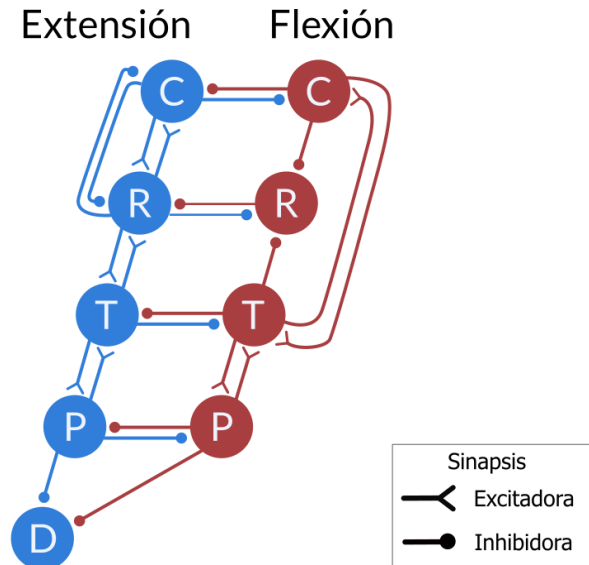


Figura 4. Modelo neuronal de la “Unidad Generadora de Ráfagas” (UBG) que genera el patrón motriz en una extremidad. El modelo *UBG* está compuesto por un hemicentro extensor (azul) y otro flexor (rojo) para cada articulación. Los hemicentros extensores y flexores se encuentran inhibidos recíprocamente. Existen conexiones excitadoras e inhibidoras entre algunas articulaciones, como se indica. Las articulaciones indicadas en el modelo corresponden a: C: Cadera, R: Rodilla, T: Tobillo, P: Pata y D: Dedos. Modificada de Grillner (1981).

La propuesta de Grillner postula las interconexiones entre los CPGs de cada articulación; sin embargo, no explica la organización intrínseca de cada CPG. Con base en evidencias experimentales, se han propuesto distintos modelos de la configuración y organización del CPG que reproducen y predicen la actividad locomotriz (ver McCrea y Rybak, 2008).

Se ha planteado que la actividad locomotriz alternada entre flexión y extensión, específicamente en el rascado ficticio en la tortuga, es el resultado de la actividad *balanceada* (o simétrica) de interneuronas propioespinales excitadoras e inhibidoras sobre las motoneuronas (Figura 5A; Berg *et al.*, 2007). Adicionalmente, se propuso que la información recibida por las motoneuronas se integra de forma parsimoniosa, dando lugar a los patrones locomotrices, cuestionando la organización de hemicentros neuronales que se inhiben recíprocamente a nivel premotoneuronal, como fue propuesto por Graham Brown.

A pesar de los hallazgos mostrados en el modelo balanceado, Endo y Kiehn (2008) demostraron que, si bien las motoneuronas flexoras y extensoras reciben en todo momento excitación e inhibición, las conductancias excitadoras son siempre predominantes durante la fase activa, tanto flexora o extensora (Figura 5B). Aunque las conductancias excitadoras son siempre de mayor amplitud en las motoneuronas flexoras (Figura 5C), la organización recíproca de los hemicentros flexor y extensor se conserva conforme al modelo de Graham Brown.

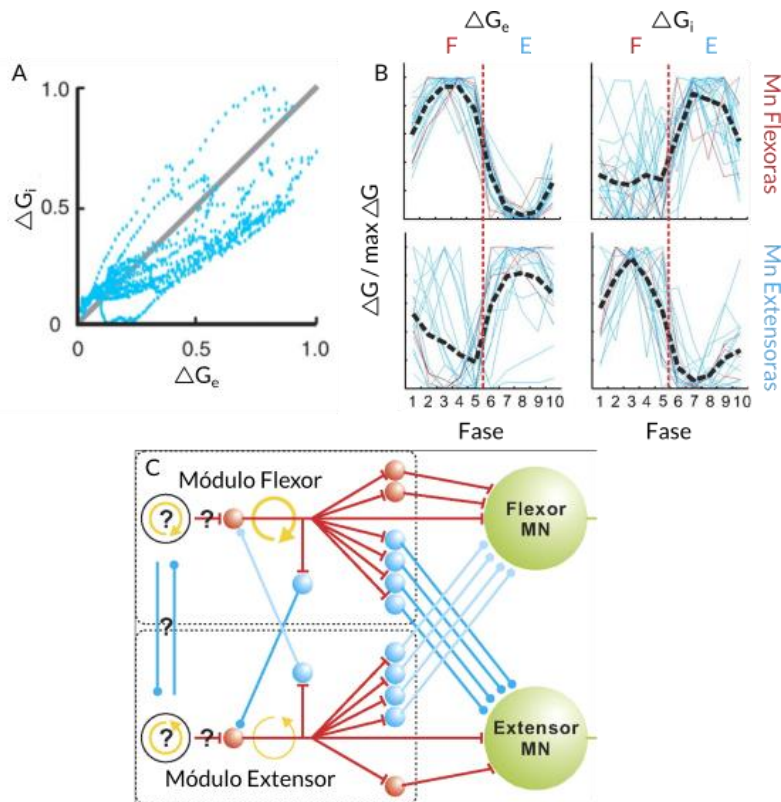


Figura 5. Modelo balanceado y modelo del CPG con dos hemicentros. **A)** Muestra la relación lineal de conductancias excitadoras e inhibitoras sobre motoneuronas flexoras registradas durante un episodio de rascado ficticio en una preparación de tortuga (Berg *et al.*, 2007). **B)** Demuestra que la relación de conductancia excitadora e inhibitora sobre motoneuronas flexoras y extensoras alternan dependiendo de la fase de rascado. **C)** Modelo con dos hemicentros propuesto con base en los hallazgos observados en B); círculos en rojo y azul corresponden a interneuronas excitadoras e inhibitoras, respectivamente; Mn a motoneuronas. Modificado de Endo y Kiehn, 2008.

Los modelos de organización del CPG más comunes proponen una organización neuronal por niveles, los cuales tienen una función específica en la generación de la actividad locomotriz (Figura 6). Los CPGs de 1 nivel contemplan únicamente a dos poblaciones de interneuronas excitadoras generadoras del ritmo, inhibidas recíprocamente, que hacen conexión directa con las motoneuronas. Esta configuración se podría considerar como la más básica, en la que las dos poblaciones excitadoras controlan tanto el ritmo como los distintos patrones. Sin embargo, no

explica fenómenos como las “deleciones” (ausencias espontáneas de actividad) observadas durante el rascado y la locomoción ficticios en el gato (Lafreniere-Roula y McCrea, 2005), donde la actividad rítmica registrada en motoneuronas de la extremidad posterior se inhibe temporalmente sin afectar la actividad de las motoneuronas antagonistas. Estas deleciones pueden ocurrir con cambios en la temporalidad del ritmo locomotriz (deleciones con reinicio o *resetting*) o sin cambios (deleciones sin reinicio). Se postuló que las deleciones con reinicio ocurren en las neuronas “reloj” o marcapaso, *i.e.* en las neuronas generadoras del ritmo, y las deleciones sin reinicio en una red interpuesta entre el “reloj” y las motoneuronas.

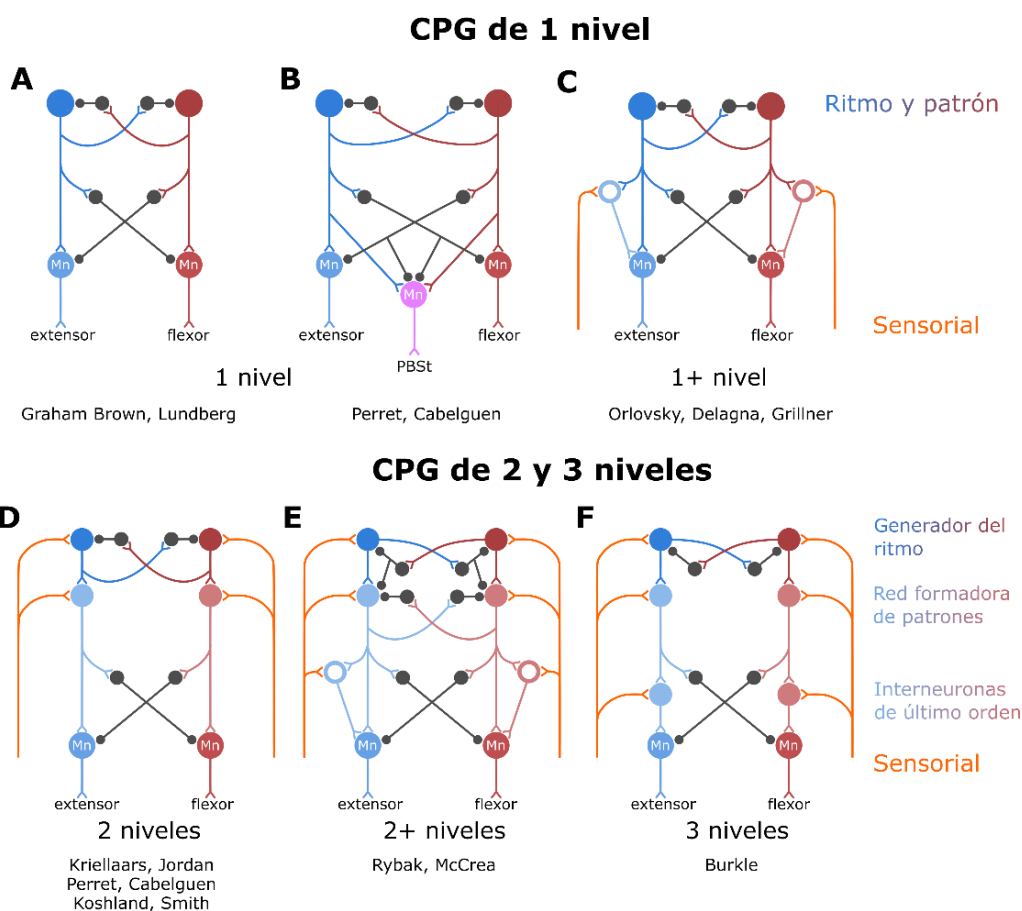


Figura 6. Representación esquemática de modelos propuestos para los Centros Generadores de Patrones con dos hemicentros. *Círculos grandes*, poblaciones de neuronas espinales excitadoras (“Mn” corresponde a las motoneuronas). *Círculos negros intermedios*, neuronas inhibitoras. *Cuñas*, sinapsis excitadoras. *Círculos más pequeños*, sinapsis inhibitoras. *Círculos vacíos*, interneuronas que producen excitación disináptica en las Mn. Las interneuronas la red formadora de patrones se representan con tonos más claros. Interneuronas del hemicentro extensor (*azul*); interneuronas del hemicentro flexor (*rojo*); Mn extensoras (*azul*); Mn flexoras (*rojo*); Mn bifuncionales (*magenta*); fibras aferentes sensoriales (*naranja*). (A-C) Modelos de CPGs de un solo nivel, donde los hemicentros generadores del ritmo establecen conexión directa con las motoneuronas. (D-F) Corresponden a modelos de dos o más niveles, en los cuales hay una red intermedia entre los hemicentros y las motoneuronas, con la finalidad de reproducir diferentes patrones de locomoción. Modificada de McCrea y Rybak (2008).

Los modelos con 2 o 3 niveles consideran una red intermedia entre el nivel generador del ritmo y las motoneuronas, cuyas interneuronas se encargan de producir un repertorio más amplio de patrones locomotrices (Rybak *et al.*, 2006a). Cabe mencionar que todos los niveles están modulados por aferencias propioceptivas y cutáneas. Además, incorporan interneuronas caracterizadas en preparaciones anestesiadas, como las interneuronas Ia, que producen la inhibición antagonista recíproca y las interneuronas de Renshaw, responsables de la inhibición recurrente en las motoneuronas, que cumplen una función relevante en la locomoción (Jankowska, 1992; McCrea y Rybak, 2008).

Con base en registros electroneurográficos de nervios musculares e intracelulares de motoneuronas, así como extracelulares de algunos tipos de interneuronas, se han generado simulaciones con herramientas matemáticas y computacionales con el fin de entender cómo se organizan los CPG, y qué tanto se aproximan a lo observado experimentalmente (Booth *et al.*, 1997; Rybak *et al.*, 2006a, b).

1.3 Neuronas candidatas del Generador Central de Patrones

Además de las estrategias anatómicas y electrofisiológicas para caracterizar las neuronas pertenecientes al Generador Central de Patrones, se han incorporado nuevos abordajes, los cuales toman como referencia marcadores moleculares que se expresan durante el desarrollo y que permiten la clasificación de múltiples estirpes neuronales (ver Kiehn y Butt, 2003). La expresión de factores de transcripción específicos, ha permitido dilucidar más finamente las distintas poblaciones neuronales que conforman los CPGs y esclarecer con más detalle la complejidad de su arquitectura; asimismo, estas poblaciones neuronales se han simulado computacionalmente para estudiar su papel funcional durante la locomoción (Rybak *et al.*, 2015).

La función de las diferentes estirpes neuronales caracterizadas molecularmente y su participación en la locomoción puede estudiarse mediante la activación y el silenciamiento selectivos, con técnicas opto- o quimiogénicas; por medio de la supresión condicional (*knockdown*) o la eliminación (*knockout*) de genes que codifican factores de transcripción específicos (Dougherty *et al.*, 2013). La Tabla 1 muestra los principales factores de transcripción

que se expresan en las neuronas candidatas a formar parte del CPG, localizadas en el asta ventral.

Tabla 1. Clasificación molecular de neuronas propioespinales candidatas a pertenecer al Generador Central de Patrones (CPG).

Factores de transcripción postmitóticos	Tipo neuronal	Neurotransmisor
<i>Isl1/Tlx3</i>	dI3	Glutamato
<i>Pax2/7</i>	V0 _D	GABA/glicina
<i>Evx1</i>	V0 _V	Glutamato
<i>Evx1/Pitx2</i>	V0 _C	Acetilcolina
<i>Evx1/Pitx2</i>	V0 _D	Glutamato
<i>En1</i>	V1	GABA/glicina
<i>Chx10</i>	V2 _a -Shox2 ^{OFF}	Glutamato
<i>Chx10/Shox2</i>	V2 _a -Shox2 ^{ON}	Glutamato
<i>GATA2/3</i>	V2 _b	GABA/glicina
<i>Sox1</i>	V2 _C	GABA/glicina
<i>Shox2</i>	V2 _d	Glutamato
<i>Hb9/Isl1-2</i>	MN	Acetilcolina
<i>Hb9</i>	Hb9	Glutamato
<i>Sim1</i>	V3 _D	Glutamato
<i>Sim1</i>	V3 _V	Glutamato

Chx10, *Ceh-10 homeodomain-containing homolog*; *Evx1*, *even skipped homeobox 1*; *En1*, *engrailed 1*; *GABA*, γ -aminobutyric acid; *GATA2/3*, *gata protein*; *Hb9*, *homeobox 9*; *Isl1-2*, *ISL1-2 transcription factor*; *Pax*, *paired box gene*; *Pitx2*, *paired-like homeodomain transcription factor 2*; *Sim1*, *single-minded homolog 1*; *MN*, *motor neuron*; *Shox2*, *Short stature homeobox 2*; *Sox1*, *SRY box-containing gene 1*; *Tlx1/3*, *T cell leukemia, homeobox 1/3*. Tomado de Kandel *et al.* (2021).

Las primeras poblaciones de neuronas consideradas como parte del CPG fueron las neuronas comisurales y las de la inhibición recíproca antagonista (Ia), pues sus características electrofisiológicas y anatómicas están bien definidas. Por ejemplo, las neuronas V0, cuya función principal es coordinar la actividad locomotriz ipsi- y contralateral (Talpalar *et al.*, 2013); y las interneuronas V2b, que se encargan de la inhibición de motoneuronas antagonistas (Zhang *et al.*, 2014).

Entre las neuronas candidatas a formar parte de la red generadora del ritmo se encuentran las interneuronas *Shox2* (Dougherty *et al.*, 2013), las interneuronas *Hb9* (factor que también se expresa en las motoneuronas) (Wilson *et al.*, 2005), y las interneuronas del tracto

espinocerebeloso ventral (VSCT) que, aunque no se les conoce su identidad molecular, se han identificado anatómicamente (Cooper y Sherrington, 1940).

Chalif *et al.* (2022) demostraron la participación de las interneuronas del VSCT (ubicadas a nivel de los segmentos L1-L2) en el inicio de la locomoción; además, encontraron que dichas neuronas eran indispensables para mantener la locomoción.

Las neuronas candidatas a pertenecer a la red generadora del ritmo expresan canales iónicos que juegan un papel fundamental en la ritmogénesis; dotándoles propiedades de marcapaso. Por ejemplo, canales de calcio tipo L ($Ca_v1.3$) (Wang *et al.*, 2011), canales persistentes de sodio (I_{NaP}) (Lee y Heckman, 2001), canales de calcio tipo T activados por hiperpolarización ($Ca_v3.1$) (Wilson *et al.*, 2005) y canales catiónicos no selectivos activados por hiperpolarización (I_h) (Chalif *et al.*, 2022).

Si bien el enfoque molecular ha contribuido a la caracterización y localización anatómica de estas neuronas, la selectividad de los anticuerpos y la expresión inespecífica de algunos factores de transcripción, así como la inviabilidad de animales transgénicos después del nacimiento, pueden generar sesgos en la interpretación de los resultados. Además de las técnicas electrofisiológicas y anatómicas clásicas, y de biología molecular, el estudio de los CPGs se complementa con el empleo de abordajes matemáticos y computacionales.

1.4 Modelos matemáticos neuronales y de los CPGs basados en las propiedades biofísicas de las neuronas y sus conexiones sinápticas

Desde tiempos pasados, los investigadores han tratado de entender, explicar y pronosticar fenómenos biológicos en términos reducidos a formas y letras abstractas que muchos matemáticos, físicos e ingenieros han desarrollado; y que, si bien ayudan a condensar un problema, aún se encuentran lejos de replicar los fenómenos fehacientemente. Empero, son una gran herramienta para predecir comportamientos y/o simular efectos que no es posible obtener experimentalmente, ya sea por dificultades técnicas, por los problemas éticos que podrían conllevar, o por la presunción teórica que difícilmente se lograría materializar.

Modelo de Hodgkin y Huxley (HH)

De los trabajos fecundos de Hodgkin y Huxley (1952) se propuso un modelo matemático determinista que describe los cambios de voltaje que suceden en un axón. En este trabajo postularon que las corrientes iónicas podían moverse a través de la membrana citoplasmática gracias a cambios en su potencial eléctrico, a la permeabilidad selectiva de la misma a diferentes iones y al gradiente electroquímico que moviliza tales iones de un lado a otro de la membrana (Hodgkin y Katz, 1949).

Estos supuestos fueron trasladados hacia un circuito eléctrico para poder explicar y obtener las ecuaciones básicas que describieran el fenómeno (Figura 7). Cada lazo de la malla corresponde a la conductancia g_i [mS] (donde i corresponde a Na^+ , K^+ y L , respectivamente) y a la fuerza electromotriz E_i [mV] (*driving force*) para cada canal iónico, dispuestos en paralelo con la capacitancia de la membrana C_m [μF].

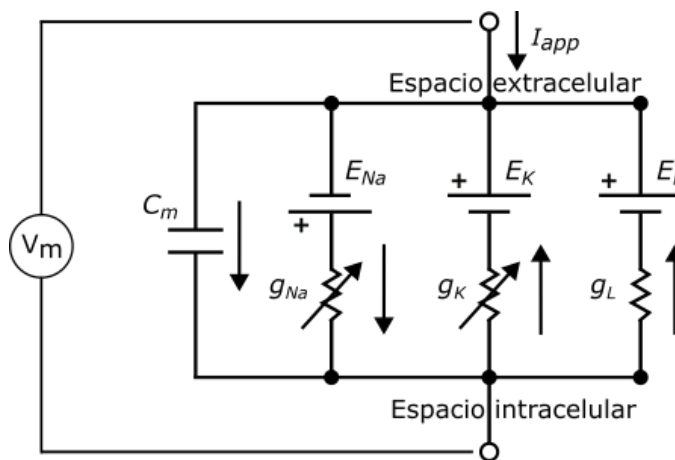


Figura 7. Modelo eléctrico de una membrana excitable. Las resistencias con conductancia g_i se encuentran conectadas en serie con su fuente E_i correspondiente (o fuerza impulsora) que mueve las cargas hacia el espacio extracelular o hacia el interior celular. Estas resistencias se encuentran dispuestas en paralelo entre sí y con la capacitancia de membrana C_m . L corresponde a una conductancia de fuga (o *Leak*), debida a los iones potasio y cloruro. I_{app} representa la corriente externa aplicada. Modificada de Hodgkin y Huxley (1952).

Del análisis de este circuito simple, obtenemos que la corriente I_i (1) para cada ion estaría dada por la conductancia g_i multiplicado por la diferencia entre el potencial de membrana V_m y el potencial de equilibrio para cada ion E_i (que se obtiene fácilmente mediante la ecuación de Nernst). En las ecuaciones el potencial de membrana V_m se representa como V . Entonces:

$$I_i = g_i(V - E_i) \quad (1)$$

El componente capacitivo de la corriente de membrana está dado por (2):

$$I_C = C_m \frac{dV}{dt} \quad (2)$$

De las leyes de Kirchhoff se sabe que la suma algebraica de las corrientes entrantes y salientes en un nodo es igual a cero (3), de modo que ello nos permite encontrar el potencial de membrana y describir los potenciales de acción en una neurona como sigue:

$$C_m \frac{dV}{dt} = -(I_{Na} + I_K + I_L - I_{app}) \quad (3)$$

También, propusieron que las conductancias $g_i(V)$, al ser variables, cambiaban su valor máximo (\bar{g}_i) respecto al voltaje, en unas funciones denominadas **variables de activación** o **inactivación** para cada especie iónica, las cuales llamaron m_i y h_i , respectivamente (originalmente m, n y h) (Hodgkin y Huxley, 1952). Sustituyendo (1) y (2) en (3) obtenemos:

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{1}{C_m} (\bar{g}_{Na} m_{Na}^3 h_{Na} (V - E_{Na}) + \bar{g}_K m_K^4 (V - E_K) + g_L(V - E_K) - I) \quad (4)$$

Y las dinámicas para las variables de activación e inactivación X (donde $X = [m_i \ h_i]^{-1}$) fueron estimadas a partir de:

$$\frac{dX_i(V)}{dt} = \frac{X_{\infty i}(V) - X_i}{\tau_{X_i}(V)} \quad (5)$$

siendo $\tau_{X_i}(V)$ una constante de tiempo con dependencia del voltaje.

De tal modo, que la solución de un sistema de 4 ecuaciones diferenciales ordinarias no lineales (4) y (5) fue necesario para obtener mecánicamente la forma característica de un potencial de acción (Figura 8).

Por otro lado, las múltiples formas de modelar un sistema dinámico, como el comportamiento de una neurona que sea capaz de describir y cumplir con las leyes físicas (derivadas de propiedades químicas y eléctricas de las membranas excitables), han sido un reto desde que se formularon por primera vez los modelos mecánicos de Hodgkin y Huxley (1952). Sin embargo, no todos los modelos tratan de explicar la cinética de las corrientes iónicas, ajustar las ecuaciones a las formas específicas de los potenciales de acción, o emplear un sin número de propiedades biofísicas para explicar el fenómeno, sino que se limitan a comprenderlo desde un punto de vista más cualitativo (Izhikevich, 2003, 2007; Nagumo *et al.*, 1962).

Para comprender estos modelos, es pertinente sintetizar los mecanismos o sucesos que subyacen a la generación de un potencial de acción. Para ello, se emplean variables de estado, las cuales especifican matemáticamente la dependencia de variables en un grupo de ecuaciones diferenciales para conocer el estado del sistema y cómo evolucionan éstas a lo largo del tiempo.

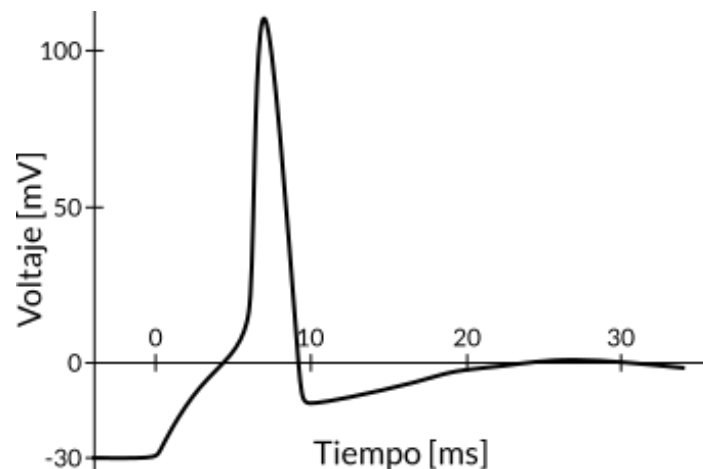


Figura 8. Potencial de acción simulado con las ecuaciones de Hodgkin y Huxley. Se muestran los cambios de voltaje simulados en un axón gigante de calamar con una condición $V(t \leq 0) = -30mV$. Pasado el tiempo cero el sistema de ecuaciones aproxima su solución a un potencial de acción real. Modificada de Hodgkin y Huxley (1952).

Modelo de Fitzhugh-Nagumo

Por ejemplo, las variables que conforman el modelo de Fitzhugh (1966) no representa alguna medición experimental, aunque explican el curso temporal del voltaje.

Las variables de salida que toma en consideración este modelo son los siguientes:

- 1) **Potencial de membrana:** (V) describe los cambios de potencial de una neurona.
- 2) **Variable de excitación:** cuya relación de corriente-potencial en muchos modelos se comporta de manera lineal y muy rápida, y que correspondería a la variable de activación para el canal de sodio (m_{Na}).
- 3) **Variable de recuperación:** tiene la función de eliminar la excitabilidad del modelo después de ocurrida una excitación; correspondiente a la variable de inactivación de los canales de sodio (h_{Na}) y la variable de activación para los canales de potasio (m_K).
- 4) **Variable de adaptación:** Su función también es disminuir la excitabilidad, pero con tiempos de relajación más prolongado, resultando en un decremento de la frecuencia

de trenes de potenciales de acción, hasta su desaparición; *e.g.*, variable de inactivación para los canales persistentes de sodio (h_{NaP}).

Tanto el potencial de membrana, como la variable de excitación, forman en conjunto un subsistema; por otro lado, las variables de recuperación y adaptación forman otros subsistemas que ayudan a reducir el número de ecuaciones diferenciales dadas en el modelo de HH a un sistema de menor cantidad de ecuaciones diferenciales.

Para representar cualitativamente el sistema no lineal, Fitzhugh tomó como referencia ecuaciones de relajación oscilatoria, que consiste en un sistema de dos ecuaciones diferenciales desarrollado a partir de un polinomio cúbico. Los cambios en el voltaje (V) están dados por la función de dV/dt (6); las variables de recuperación W y la corriente aplicada I ; y los cambios en el estado de recuperación dependen de tres constantes a , b y c (6).

$$\frac{dV}{dt} = V - \frac{V^3}{3} - W + I \quad (6)$$

$$\frac{dW}{dt} = c(V + a - bW)$$

La Figura 9 muestra el circuito equivalente propuesto para simular la actividad de un axón partiendo de las ecuaciones de Fitzhugh (Nagumo *et al.*, 1962):

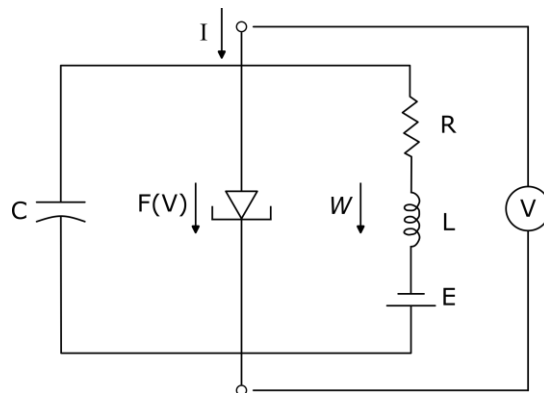


Figura 9. Circuito eléctrico que reproduce el comportamiento de disparo tónico de potenciales de acción. La corriente aplicada I circula en paralelo por el capacitor (membrana), un diodo con efecto túnel $F(V)$, y una conexión en serie de una resistencia R , un inductor L y una fuente E . El efecto túnel aporta la resistencia negativa necesaria para que oscile el circuito. Modificada de Nagumo *et al.*, 1962.

El modelo anteriormente mencionado que se conoce comúnmente como Fitzhugh-Nagumo está resuelto en la Figura 10 (Figura 10A (6)), simulando el potencial de acción a partir de un oscilador, y es menester mencionar que sus variables de estado, cuya trayectoria se muestran sobre un campo vectorial, se mantienen estables dentro de un atractor (Figura 10B).

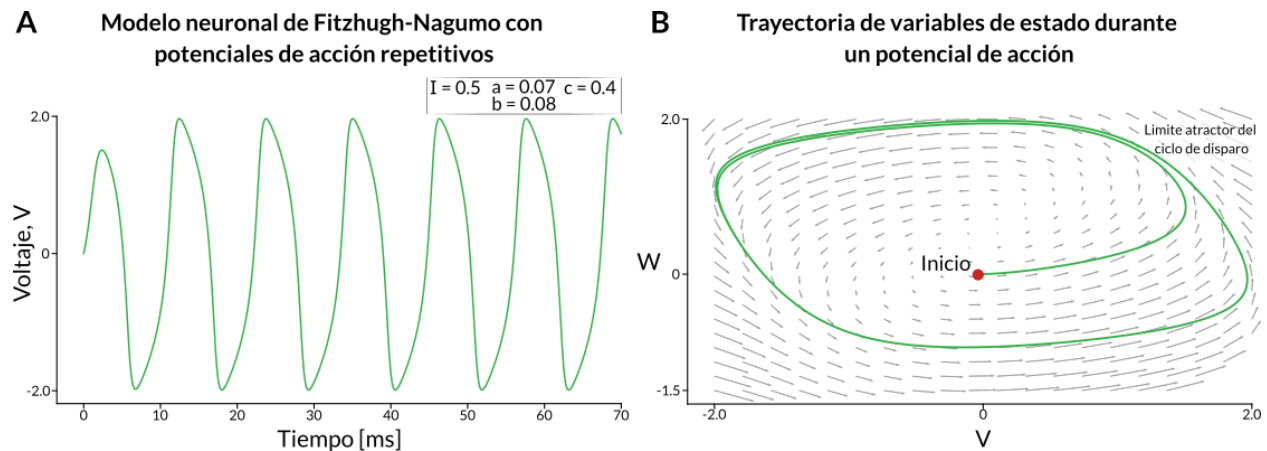


Figura 10. Solución matemática al modelo de Fitzhugh-Nagumo y su comportamiento dinámico. A) El potencial de membrana V oscila entre un valor de -2.0 a 2.0 y se mantiene estable en el tiempo. Se nota la despolarización y repolarización, similar a lo ocurrido en una neurona biológica. **B)** Muestra las trayectorias de los estados de activación y relajación en un campo vectorial cuando se aplica corriente al sistema. Se puede notar como la trayectoria parte del centro (punto rojo) y es estable, pues es atraído hacia el ciclo límite.

Modelo de Izhikevich

Por otro lado, hay otros modelos que al modificar parámetros como la tasa de recuperación (a), la sensibilidad (b), así como los parámetros de reinicio (c y d), logran replicar con mayor fidelidad la morfología de un potencial de acción biológico (Izhikevich, 2003).

El modelo de Izhikevich replica con más precisión el comportamiento neuronal, refinando algunas variables que Fitzhugh-Nagumo no contemplaron en su modelo como, por ejemplo, la amplitud del impulso, la variabilidad en el voltaje subumbral, etc.

$$\frac{dv}{dt} = 0.04v^2 + 5v + 140 - u + I$$

$$\frac{du}{dt} = a(bv - u)$$

(7)

si $v \geq 30 \text{ mV}$, entonces: $v \leftarrow c$; y $u \leftarrow u + d$

La solución de (7) con distintos parámetros de actividad y la dinámica de sus estados están representados en la Figura 11.

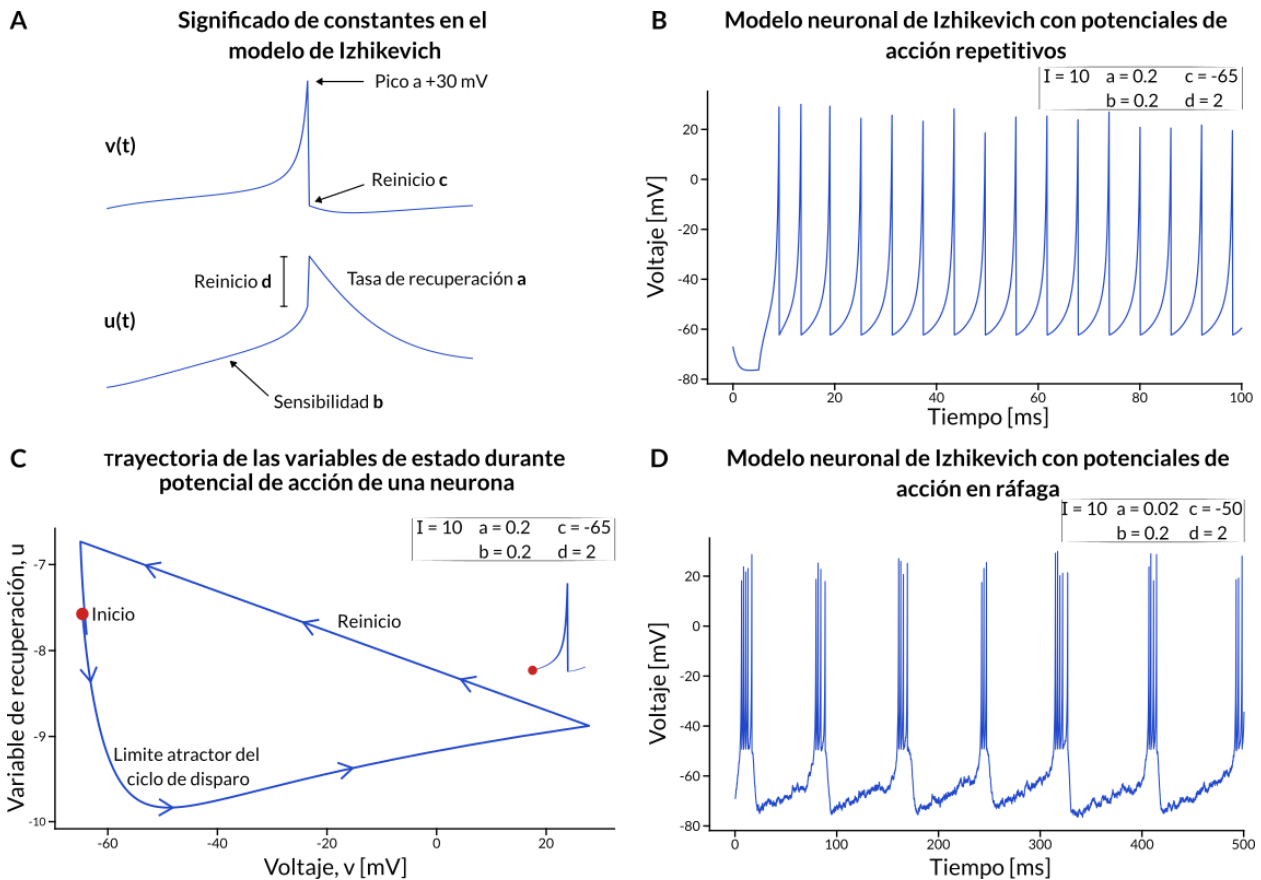


Figura 11. Modelo neuronal de Izhikevich. **A)** Parámetros que modifican la dinámica de los estados de activación para el cambio de voltaje (v) y recuperación (u) del potencial de membrana al estado de reposo. **B)** Potenciales de acción disparando repetitivamente. **C)** Trayectoria de las variables de estado en las que se observan el inicio del potencial de acción y su retorno después del reinicio o recuperación. **D)** Potenciales de acción disparando en ráfagas montados sobre mesetas. Basado en Izhikevich, 2003, 2007.

Es importante mencionar que estos modelos se basan en las propiedades y en las conexiones de neuronales individuales caracterizadas experimentalmente.

Frente a los modelos anteriormente mencionados, Rybak *et al.* (2006a) propusieron un **modelo realista** conformado por una red neuronal que pudiera replicar los comportamientos alternantes, rítmicos y cíclicos observados durante la locomoción ficticia; tomando como partida la hipótesis de los *half-centres* propuesta por Graham Brown (1911) y las ecuaciones de Hodgkin y Huxley (HH).

La Figura 12 representa un modelo de 2 niveles donde las interneuronas generadoras del ritmo (RG) extensor (en azul) y flexor (en rojo), se encuentran inhibidas recíprocamente por interneuronas inhibitoras (en negro). A su vez, las interneuronas RG hacen sinapsis con interneuronas interpuestas entre el generador del ritmo y las motoneuronas, llamada red formadora de patrones (PF). Del mismo modo, las interneuronas PF también están inhibidas recíprocamente; hacen conexión directa con motoneuronas sinergistas y con interneuronas relacionadas con la inhibición recíproca (Ia) para producir alternancia entre motoneuronas sinergistas y antagonistas.

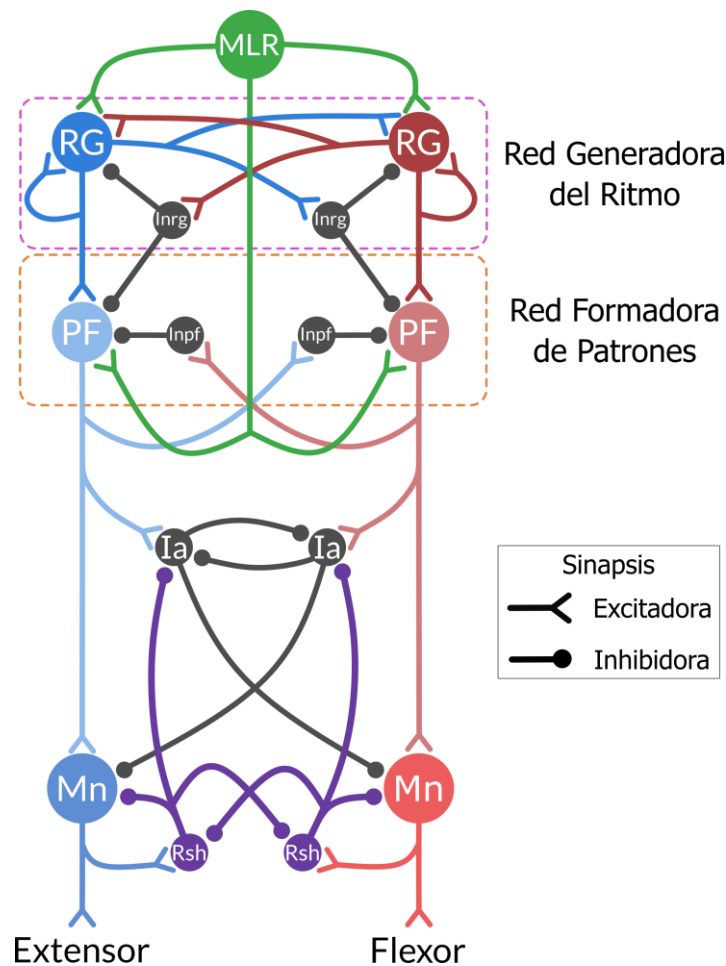


Figura 12. Modelo neuronal del Generador Central de Patrones (CPG). La red neuronal corresponde a un modelo de compartimento único para poblaciones de interneuronas espinales (cuyos procesos dendríticos, soma y axón quedan reducidos a una esfera). Las sinapsis excitatorias están indicadas por una cuña y las sinapsis inhibitorias por un círculo más pequeño. Las poblaciones de motoneuronas están indicadas con las letras "Mn" y simuladas con un modelo de doble compartimento (Booth *et al.*, 1997). *MLR*, región locomotriz mesencefálica; *RG*, red generadora del ritmo; *PF*, red formadora de patrones; *Inrg*, interneuronas inhibitorias de RG; *Inpf*, interneuronas inhibitorias de PF; *Ia*, interneuronas de la inhibición recíproca; *Rsh*, interneuronas de Renshaw. Modificada de Rybak *et al.* (2006a).

A este modelo también se le incorporó la participación de las interneuronas inhibitoras de Renshaw (Rsh), las cuales son excitadas por motoneuronas que a su vez son recurrentemente inhibidas por dichas interneuronas. Existe evidencia que las interneuronas de Renshaw de motoneuronas extensoras inhiben a las interneuronas Ia que producen la inhibición recíproca en las motoneuronas flexoras, y viceversa. Además, las interneuronas Ia (extensoras y flexoras), así como las interneuronas de Renshaw se inhiben entre sí (Jankowska, 1992). La inducción de la actividad rítmica de la red RG, y en cierta medida de la PF, está dada por una excitación tónica proveniente de la región locomotriz mesencefálica (MLR).

1.5 Modulación sensorial del patrón locomotriz en los mamíferos

No podemos dejar de lado la importancia que tienen los receptores musculares, cutáneos y articulares y los centros cerebrales superiores que regulan al CPG, pues si bien se puede estudiar de manera aislada la médula espinal, la modulación supraespinal y la retroalimentación sensorial modifican el patrón motriz de salida.

El estudio de las interacciones sensoriomotoras dinámicas durante la locomoción ha permitido determinar cómo varias respuestas reflejas podrían dar lugar a correcciones coherentes del patrón locomotriz, así como también podría revelar mecanismos básicos de integración sensoriomotora durante el movimiento. Aunque existe un patrón motriz de base, hay vías reflejas intrínsecas que se manifiestan sólo cuando se producen cambios biomecánicos inesperados, o inherentes al ambiente, detectados gracias a la retroalimentación sensorial. Por ejemplo, en los animales realizando *air-stepping* la actividad disminuye o cesa cuando tocan una superficie firme, los gatos caminando sobre dos bandas a diferentes velocidades son capaces de ajustar su cadencia (ver Prochazka, 1996), o la detección de obstáculos inesperados durante la marcha (Forssberg *et al.*, 1977), etc.

A su vez, los reflejos también han demostrado propiedades que aparecen únicamente en comportamientos rítmicos como la locomoción, y que no es posible observar durante condiciones estáticas; *e.g.*, la excitación refleja disináptica (Angel *et al.*, 2005), la ausencia de la inhibición disináptica no recíproca (Gossard *et al.*, 1994), la modulación sensorial vía despolarización de aferentes primarias (PAD) de forma oscilante (Gossard *et al.*, 1991), etc.

La respuesta de salida del CPG de la locomoción puede ser regulada de diversas formas como se muestra en la Figura 13: i) un movimiento voluntario controlado por la corteza; ii) un ajuste propiciado por aferentes periféricas; iii) cambios en la excitabilidad de las motoneuronas; o iv) cambios en la liberación de transmisor en las fibras aferentes por inhibición presináptica (ver Rossignol *et al.*, 2006).

Las fibras aferentes propioceptivas provenientes del huso muscular (Ia) y del órgano tendinoso de Golgi (Ib) controlan de manera muy robusta la función locomotriz (ver Prochazka, 1996). Por ejemplo, la estimulación de aferentes extensoras, particularmente las provenientes de músculos del tobillo, durante la fase de flexión, producen un cambio en la temporalidad del ritmo locomotriz al incrementar la actividad extensora y terminando abruptamente la fase flexora (reinicio o *resetting* hacia la extensión) (Domínguez-Rodríguez *et al.*, 2020; Whelan *et al.*, 1995).

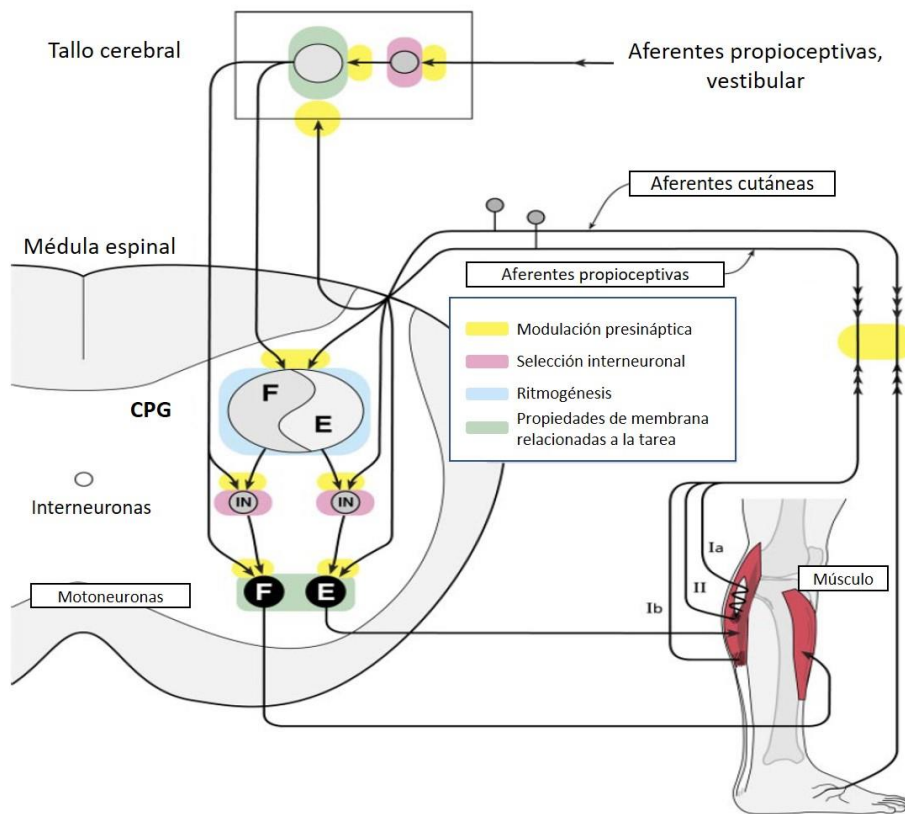


Figura 13. Modulación sensorial y supraespinal del CPG de la locomoción. El control del CPG está dado por aferencias propioceptivas musculares, tales como las fibras de los grupos Ia, Ib y II; aferentes cutáneas (no nociceptivas y nociceptivas); y aferencias supraespinales. Toda la información aferente es filtrada e integrada por el CPG, cuyas salidas pueden ser moduladas presinápticamente antes de hacer conexión con las motoneuronas. *F*, flexor; *E*, extensor; *IN*, interneurona. Imagen modificada de Rossignol *et al.* (2006).

Por su parte, la información sensorial cutánea regula la función del CPG para i) el posicionamiento correcto de las extremidades en el piso durante la marcha; ii) producir respuestas adaptativas a una variedad de perturbaciones en diferentes fases del ciclo locomotriz a fin de lograr un andar ininterrumpido (Forssberg, 1979; Quevedo *et al.*, 2005) y; iii) el mantenimiento del balance y coordinación entre las extremidades ipsi- y contralaterales (Hurteau *et al.*, 2018).

1.6 Reacción de corrección del tropiezo

La información sensorial cutánea juega un papel importante en la modulación de la locomoción, informa rápidamente al SNC sobre el ambiente en el que se encuentra el organismo y sobre posibles perturbaciones inesperadas que pudiesen presentarse (*e.g.*, un agujero o un obstáculo) y afectar el ciclo normal locomotriz (Forssberg *et al.*, 1977).

Forssberg *et al.* (1977) reportaron un reflejo cutáneo capaz de modificar el patrón locomotriz en la preparación del gato espinalizado, llamándole **reacción de corrección del tropiezo**. Tal reacción se basa en una corrección “espontánea” que eleva la pata del gato con la intención de superar un obstáculo que toca el dorso de la pata trasera durante la fase flexora de la locomoción (Figura 14). Los resultados obtenidos demostraron que el reflejo era meramente espinal y que no existía ningún tipo de corrección mediada por estructuras supraespinales.

Posteriormente, Forssberg (1979) observó una respuesta similar al estimular eléctricamente el dorso de la pata en el gato intacto caminando en una banda sin fin. Este reflejo se replicó con la estimulación mecánica mediante un soplido de aire sobre el campo receptivo del dorso de la pata (inervado por el nervio peroneo superficial «SP»).

Wand *et al.* (1980) estudiaron este reflejo con más detalle y observaron que se abolía al anestésicar con lidocaína la piel del dorso de la pata, demostrando que la respuesta es meramente cutánea y no debida a la activación de aferentes musculares.

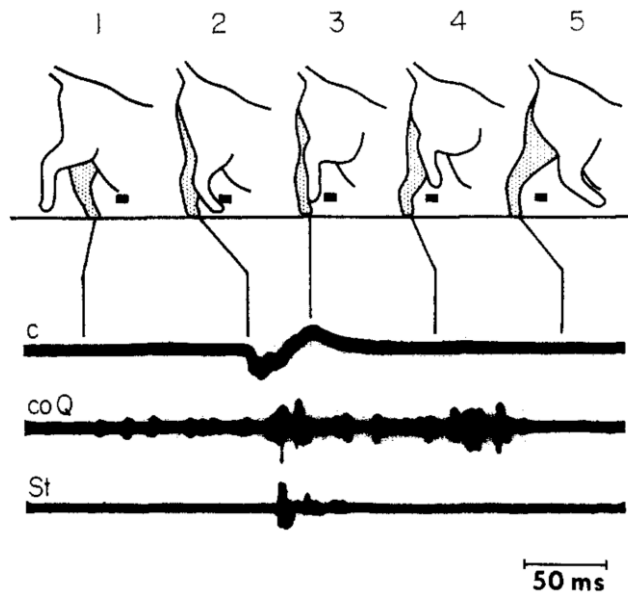


Figura 14. Reacción de corrección del tropiezo. De arriba hacia abajo. Cinemática de un gato espinalizado caminando sobre una banda sin fin. El cuadro negro representa un objeto que obstruye el paso durante la fase de balanceo de la extremidad posterior (en 3). c: galga extensométrica que informa el momento en que el dorso de la pata toca el obstáculo. coQ: Registro EMG del músculo cuádriceps contralateral al obstáculo. St: Registro EMG del músculo semitendinoso de la extremidad ipsilateral al obstáculo. Tomado de Forsberg *et al.* (1977).

La Figura 15A muestra el patrón cinemático y electromiográfico de una extremidad posterior durante la locomoción normal. Al inicio del ciclo locomotriz los músculos extensores *Gastrocnemius lateralis* (LG) y *Vastus lateralis* (VL) se encuentran activos en la fase E3, cuya transición a la fase de balanceo está controlada por los músculos bifuncionales *Biceps posterioris* (PB) y *Semitendinosus* (ST) (flexor de la rodilla y extensor de la cadera) y al término de la actividad de éstos se activa el *Tibialis anterioris* (TA) (correspondiente a la fase flexora F). Posteriormente, los músculos extensores LG y VL dan comienzo a la parte final del balanceo (E1), exhibiendo su máxima amplitud durante el apoyo (E2); y consecuentemente se llegará a la fase E3 para propulsar el cuerpo y reiniciar otro el ciclo locomotriz.

La Figura 15B ilustra la reacción de corrección del tropiezo producida por la estimulación mecánica del dorso de la pata **durante la fase flexora**. Durante esta reacción se produce una sobre activación del TA, que inicia con una latencia de 10 ms posterior al estímulo y termina abruptamente. Enseguida, se activan los músculos ST y PB con latencias de 17 y 19 ms, respectivamente, provocando la flexión de la rodilla para elevar la pata. Posteriormente, se activa el LG con una latencia de 25 ms, la cual permite una extensión del tobillo; esta activación transitoria del LG coincide con la inhibición transitoria del TA. Finalmente, al término de la

actividad del LG se observa un reclutamiento prolongado del TA (de amplitud superior a la condición control) y una hiperflexión del tobillo con la finalidad de superar el obstáculo, concomitantemente a la flexión previa de la articulación de la rodilla.

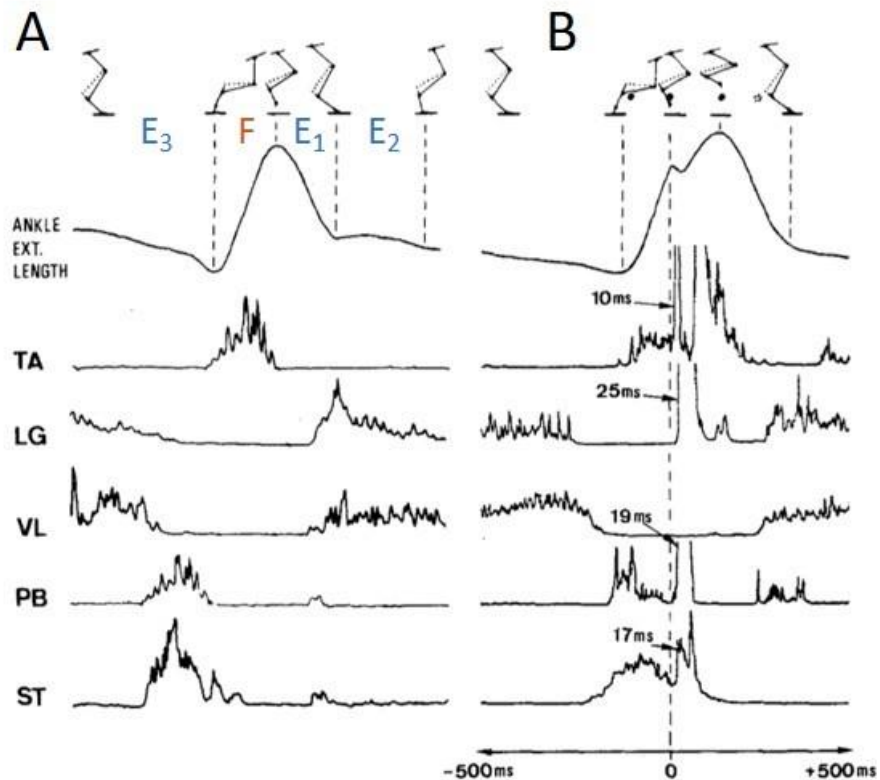


Figura 15. Actividad EMG durante la reacción de corrección del tropiezo en la extremidad posterior del gato. A) De arriba abajo, en un ciclo de locomoción normal se ilustran: el diagrama de los ángulos de las articulaciones de la extremidad posterior, el ángulo de la articulación del tobillo, la actividad EMG rectificadas e integradas de músculos extensores (LG, VL), flexor (TA) y bifuncionales (PB y ST). **B)** Mismo formato que en A, durante la estimulación mecánica del dorso de la pata en la fase de flexión. El ángulo del tobillo se estimó con una galga extensométrica que mide la distancia entre la cabeza del hueso tibial y el calcáneo, de manera que, cuando el tobillo se extiende (deflexión hacia abajo) la distancia disminuye y cuando se flexiona (deflexión hacia arriba) aumenta. Abreviaciones, TA: *Tibialis anterioris*, LG: *Gastrocnemius lateralis*, VL: *Vastus lateralis*, PB: *Biceps posterioris*, ST: *Semitendinosus*. Modificado de Wand *et al.* (1980).

Posteriormente, Quevedo *et al.* (2005a) registraron la actividad ENG en nervios musculares de la extremidad posterior en una preparación del gato durante locomoción ficticia producida por la estimulación eléctrica de la MLR. Interesantemente, el único nervio cutáneo capaz de desencadenar la corrección del tropiezo fue el SP (como ya se había demostrado), y observaron que cuando el estímulo se aplicaba durante la fase de flexión se producía una respuesta característica de la reacción de corrección del tropiezo (Figura 16A). Si el estímulo se

daba sobre la fase de extensión, se producía un efecto que denominaron **reacción de prevención del tropiezo**, en el cual la actividad extensora en curso se incrementaba, con un aumento en la actividad flexora subsecuente (Figura 16B).

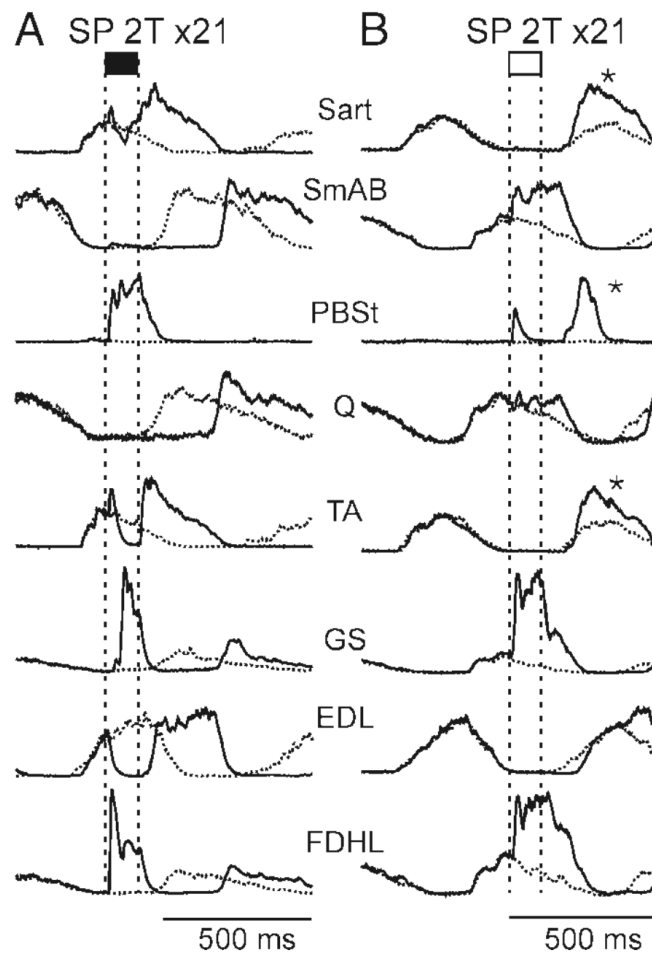


Figura 16. Reacción de corrección del tropiezo y reacción de prevención del tropiezo durante locomoción ficticia. Los trazos *punteados* corresponden a la situación control y la *línea sólida* durante la estimulación eléctrica del nervio SP. **A)** El nervio SP se estimula durante la flexión. La actividad de los nervios PBSt, GS y FDHL aumentó durante la actividad flexora en curso. La actividad de TA se incrementa transitoriamente y posteriormente se inhibe. Terminado el estímulo Sart, TA y EDL aumentan su actividad prolongando la fase de flexión. **B)** El nervio SP se estimula durante la extensión. La actividad de SmAB, GS y FDHL aumentan durante la actividad extensora en curso y se prolonga. Terminado el estímulo se observa una actividad prolongada y de mayor amplitud en Sart, PBSt y TA. Tomada de Quevedo *et al.* (2005a).

Con la finalidad de entender las posibles vías neuronales implicadas en la reacción de corrección del tropiezo, Quevedo *et al.* (2005b) realizaron registros intracelulares de diferentes grupos de motoneuronas que activan músculos de las articulaciones de la cadera, rodilla y tobillo. A partir de las latencias medidas -con respecto a la salva aferente del SP en el dorso de la médula-

de los potenciales postsinápticos excitadores (EPSPs) o inhibidores (IPSPs) registrados, se propuso un modelo de organización de las vías neuronales involucradas en este reflejo (Figura 17).

Con base en las latencias registradas de los EPSPs e IPSPs, se propusieron dos interneuronas excitadoras interpuestas entre las fibras aferentes y las motoneuronas de las tres articulaciones, y una interneurona inhibidora de último orden con las motoneuronas de la articulación de la cadera y del tobillo. Estas interneuronas, si bien son hipotéticas, explican el patrón producido en la respuesta del tropiezo. La localización anatómica, así como sus propiedades eléctricas, celulares y moleculares son aún desconocidas. Finalmente, las aferentes cutáneas del nervio SP podrían también interactuar directamente con el CPG, puesto que durante esta conducta motriz logran modificar la temporalidad de la locomoción, *i.e.* producen un *resetting*.

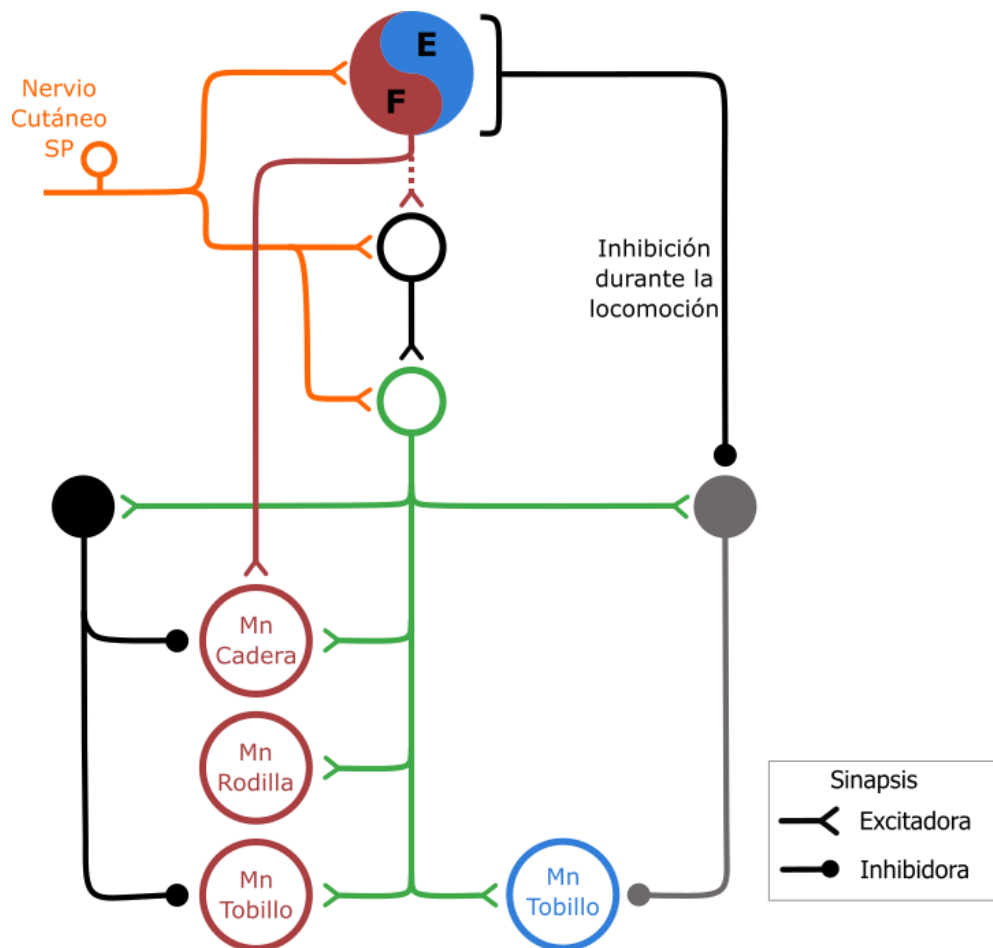


Figura 17. Circuito neuronal involucrado en la reacción de corrección de tropiezo. El diagrama muestra una propuesta de las conexiones sinápticas entre el nervio SP, el CPG e interneuronas propioespinales hipotéticas que hacen conexión con los distintos grupos -o *pools*- de motoneuronas. Modificada de Quevedo *et al.* (2005b).

Si bien muchos de los trabajos experimentales se han limitado al estudio en modelos animales como el gato, lo cierto es que el reflejo de corrección del tropiezo se expresa también en infantes menores de un año, sostenidos por un arnés y caminando sobre una banda sin fin. Estos infantes fueron capaces de corregir la marcha cuando se les estimulaba mecánicamente el dorso del pie (Lam *et al.*, 2003), lo que demuestra que las vías necesarias para caminar (y ajustar la marcha) ya se encuentran presentes en la médula espinal del humano desde etapas tempranas del desarrollo, y que el control volitivo de la locomoción y el equilibrio surgirían sólo después de la maduración de las vías supraespinales.

2. Planteamiento del problema

En el gato anestesiado, se han descrito las vías interneuronales que se activan por la estimulación del nervio peroneo superficial (SP) a partir de registros intracelulares en motoneuronas de distintos músculos de la extremidad posterior (Omeniuk, 1990).

Durante la locomoción ficticia en el gato se han dilucidado algunas vías neuronales activadas por la estimulación del nervio SP en las distintas fases de la locomoción. Durante la fase de flexión, la estimulación de este nervio produce la **reacción de corrección del tropiezo** y durante la fase extensión, la **reacción de prevención del tropiezo**. Es decir, el CPG es capaz de modular la actividad de las interneuronas involucradas de una manera dependiente de la fase y acorde a la tarea motriz a desempeñar (Quevedo *et al.*, 2005b).

En el gato, ha sido posible registrar interneuronas candidatas para producir el *resetting* hacia la fase de extensión, las cuales son activadas por la estimulación de nervios musculares extensores (Domínguez-Rodríguez *et al.*, 2020). Sin embargo, el registro de las interneuronas activadas por nervios cutáneos, y en el caso de la reacción de corrección del tropiezo, por el nervio SP, ha sido más complicado, sobre todo porque se activan vías oligosinápticas de interneuronas tanto excitadoras como inhibitoras (Quevedo *et al.*, 2005b).

Por esta razón, el modelado realista del CPG y de las vías neuronales descritas, con base en datos experimentales, nos permitirán predecir la actividad de las interneuronas involucradas en la reacción de corrección (o prevención) del tropiezo, y cómo las aferentes del nervio SP modulan el CPG locomotriz.

El modelo a desarrollar pretende abonar al entendimiento del CPG mediante la simulación de neuronas que modulan la actividad de motoneuronas que inervan músculos de las tres articulaciones principales (cadera, rodilla y tobillo). Si bien ya existen modelos neuromecánicos inspirados en la configuración de un CPG que simulan la cinemática de las extremidades en los distintos tipos de marcha, y la modulación por la información propioceptiva (Ausborn *et al.*, 2019; Danner *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2022). Los reflejos cutáneos aún no han sido incorporados a estos modelos por su naturaleza más compleja.

Descifrar el control del CPG locomotriz por la información sensorial es un paso importante para mejorar las condiciones clínicas de pacientes con lesiones espinales que requieran neuro-rehabilitación, y para la implementación y mejoramiento de prótesis y/o exoesqueletos asistenciales para la marcha, pues partiendo del conocimiento de la arquitectura del CPG se pueden proponer dinámicas mecánicas bio-inspiradas.

3. Pregunta de investigación

¿Mediante un modelo realista del Generador Central de Patrones (CPG) de la locomoción se puede predecir la actividad de las interneuronas implicadas en la reacción de corrección del tropiezo?

4. Hipótesis

El modelado del Generador Central de Patrones (CPG) y de las vías neuronales activadas por la estimulación del nervio peroneo superficial (SP), permitirá predecir el papel funcional de las interneuronas involucradas en la reacción de corrección del tropiezo.

5. Objetivos

Objetivo general

Desarrollar un modelo matemático realista de un CPG que controle motoneuronas de diferentes músculos, incluyendo las vías neuronales activadas por la estimulación del nervio peroneo superficial (SP), para predecir la actividad de las interneuronas involucradas en la reacción de corrección del tropiezo.

Objetivos particulares

1. Simular el CGP de una articulación en un modelo realista.
2. Mimetizar la reacción de corrección del tropiezo en el modelo desarrollado con base en los datos electroneurográficos registrados experimentalmente durante la locomoción ficticia.
3. Proponer la dinámica de las interneuronas modeladas con el patrón de activación de las interneuronas registradas experimentalmente, para poder clasificarlas.

6. Métodos

El modelo que se pretende desarrollar se basa de las ecuaciones clásicas de Hodgkin-Huxley y, como se mencionó en la introducción, partimos de la ecuación (3) que expresa la forma en que podemos simular las corrientes iónicas en un circuito eléctrico equivalente. Ello con la finalidad de calcular el potencial de membrana de una neurona mediante una ecuación diferencial lineal de primer orden.

La primera corriente corresponde a la corriente capacitiva (2) que es generada por la bicapa lipídica, la cual mantiene cargas en el citosol y en el espacio extracelular, donde la parte lipídica de la membrana funge como dieléctrico. La suma de corrientes entrantes y salientes, capacitivas y iónicas, determina los cambios en el potencial de membrana de la neurona.

De (1) se desprenden las ecuaciones particulares para cada canal iónico (Rybak *et al.*, 2006a):

$$\begin{aligned}I_{Na} &= \bar{g}_{Na} \cdot m_{\infty Na}^3 \cdot h_{Na} \cdot (V - E_{Na}) \\I_{NaP} &= \bar{g}_{NaP} \cdot m_{\infty Na} \cdot h_{NaP} \cdot (V - E_{Na}) \\I_{CaN} &= \bar{g}_{CaN} \cdot m_{CaN}^2 \cdot h_{CaN} \cdot (V - E_{Ca}) \\I_{CaL} &= \bar{g}_{CaL} \cdot m_{CaL} \cdot (V - E_{Ca}) \\I_K &= \bar{g}_K \cdot m_K^4 \cdot (V - E_K) \\I_{K,Ca} &= \bar{g}_{K,Ca} \cdot m_{K,Ca} \cdot (V - E_K) \\I_L &= g_L \cdot (V - E_L)\end{aligned} \tag{ 8 }$$

Donde:

\bar{g}_i : Conductancia máxima para cada ion i (Na^+ , K^+ y Ca^{2+})

m_i : Variable de activación

h_i : Variable de inactivación

La dinámica de las variables de activación e inactivación representan la fracción de un tipo particular de canales iónicos en un estado que permiten el flujo de corriente, y se resuelven a partir de las ecuaciones de Boltzman (Booth *et al.*, 1997), tomando como referencia el siguiente análisis (Miller, 2018):



Siendo el canal iónico complejo proteico que cambia de un estado cerrado C a uno abierto A , con sus respectivas tasas de transición $\alpha(V)$ y $\beta(V)$, con unidades en $[s^{-1}]$ (9); suponemos el número de canales cerrados como N_C , el número de canales abiertos como N_A y el total de canales disponibles como N_T . Con ello, obtenemos que el número de canales cerrados que se abren es αN_C (tasa de apertura) y el número de canales abiertos que se cierran es igual a βN_A (tasa de cierre).

Sabemos que, sin importar en qué estado se encuentren los canales $N_T = N_C + N_A$, y podemos decir que $N_C = N_T - N_A$, o lo que es igual a $\alpha N_C = \alpha(N_T - N_A)$. Por lo tanto, la tasa de cambio del número de canales abiertos $\frac{dN_A}{dt}$ se calcula como la diferencia entre la tasa de apertura y la tasa de cierre:

$$\begin{aligned} \frac{dN_A}{dt} &= \alpha N_C - \beta N_A; \\ \frac{dN_A}{dt} &= \alpha(N_T - N_A) - \beta N_A \end{aligned} \quad (10)$$

Sin embargo, es más sencillo emplear la fracción de canales que se abren, por lo que sustituimos en (10)

$$S = \frac{N_A}{N_T};$$

obteniendo:

$$\frac{dS}{dt} = \alpha(1 - S) - \beta S \quad (11)$$

donde $S = \begin{bmatrix} m_i \\ h_i \end{bmatrix}$

Encontramos el valor de S_∞ (i.e. el valor de S en estado estacionario), que se determina a partir de la solución de la ecuación diferencial (11) con $\frac{dS}{dt} = 0$

$$S_{\infty} = \frac{\alpha}{\alpha + \beta} \quad (12)$$

Y la constante de tiempo τ_S correspondiente al inverso de la sumatoria de transiciones:

$$\tau_S = \frac{1}{\alpha + \beta} \quad (13)$$

Sustituyendo (12) y (13) en (11) se obtiene como resultado:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{S_{\infty} - S}{\tau_S}$$

Cuya estructura es similar a la obtenida en (5) por Hodgkin y Huxley; de esta manera es que se llega a las ecuaciones usadas por Booth *et al.* (1997) y Rybak *et al.* (2006), que corresponden con las variables de activación para cada uno de los canales iónicos.

Las variables de activación e inactivación pueden ser estimadas a partir de:

$$\begin{aligned} \frac{dm_i(V)}{dt} &= \frac{m_{\infty i}(V) - m_i}{\tau_{mi}(V)} \\ \frac{dh_i(V)}{dt} &= \frac{h_{\infty i}(V) - h_i}{\tau_{hi}(V)} \end{aligned} \quad (14)$$

donde $m_{\infty i}(V)$ y $h_{\infty i}(V)$ corresponden a los valores en estado estacionario de $m(V)$ y $h(V)$, y $\tau(V)$ una constante de tiempo. Puesto que la dinámica de las variables de activación m_{Na} y m_{NaP} , son mucho más rápidas en comparación con las demás variables, y puesto que son más rápidas que la constante de tiempo de la membrana (dentro de sus propiedades pasivas), sus constantes de tiempo τ_{mNa} y τ_{mNaP} se consideran igual a cero.

Entonces, para determinar el potencial de membrana de una neurona de un solo compartimento se requiere la función:

$$C_m \frac{dV}{dt} = -I_{Na} - I_K - I_L - I_{SynE} - I_{SynI} \quad (15)$$

En donde I_{SynE} e I_{SynI} corresponden a las corrientes sinápticas excitadoras e inhibitoras, respectivamente, que simulan las conexiones sinápticas (fibras aferentes, descendentes e interneuronas) que recibe una neurona determinada.

Para las interneuronas RG y PF se agrega una corriente persistente de sodio:

$$C_m \frac{dV}{dt} = -I_{Na} - I_{NaP} - I_K - I_L - I_{SynE} - I_{SynI} \quad (16)$$

Las motoneuronas están simuladas conforme a un modelo de doble compartimento propuesto por Booth *et al.* (1997). Donde $V_{(S)}$, correspondiente al potencial de membrana en el soma, y $V_{(D)}$ al potencial en la dendrita, los cuales se acoplan por medio de una corriente I_{Cc} (corriente de acople o *coupling current*):

$$I_{Cc(S)} = \frac{g_c}{p} (V_{(S)} - V_{(D)})$$

$$I_{Cc(D)} = \frac{g_c}{1-p} (V_{(D)} - V_{(S)})$$

donde g_c corresponde a la conductancia de acople y p a la proporción entre el área del soma y el área total; quedando las expresiones:

$$C_m \frac{dV_{(S)}}{dt} = -I_{Na(S)} - I_{K(S)} - I_{CaN(S)} - I_{K,Ca(S)} - I_{L(S)} - I_{Cc(S)} \quad (17)$$

$$C_m \frac{dV_{(D)}}{dt} = -I_{NaP(D)} - I_{CaN(D)} - I_{CaL(D)} - I_{K,Ca(D)} - I_{L(D)} - I_{Cc(D)} - I_{SynE} - I_{SynI};$$

cuya tasa de remoción del calcio, se estima convirtiendo la I_{Ca} mediante la expresión:

$$\frac{d}{dt} Ca = -f(\alpha \cdot I_{Ca} + k_{Ca} \cdot Ca) \quad (18)$$

Para calcular las corrientes sinápticas, tanto excitadoras (I_{SynE}) como inhibitoras (I_{SynI}), se multiplican sus conductancias (g_{SynE}) y (g_{SynI}) con el *driving force* dado por los potenciales de inversión de las corrientes sinápticas (E_{SynE}) y (E_{SynI}), respectivamente.

$$I_{SynE} = g_{SynE}(V - E_{SynE})$$

$$I_{SynI} = g_{SynI}(V - E_{SynI}) \quad (19)$$

Las conductancias sinápticas sólo toman valor cuando un potencial de acción proveniente de la neurona j hace sinapsis con la neurona i , y el potencial de membrana supera el umbral de disparo de la neurona i :

$$g_{SynE_i}(t) = \bar{g}_E \sum_{j=1}^n \sum_{<t} W_{ji} e^{\frac{-(t-t_{kj})}{\tau_{SynE}}} + \bar{g}_{Ed} \sum_m W_{dmi} d_{mi} ; \quad (20)$$

$$g_{SynI_i}(t) = \bar{g}_I \sum_{j=1}^n \sum_{<t} W_{ji} e^{\frac{-(t-t_{kj})}{\tau_{SynI}}}$$

donde n representa el total de neuronas por población, siendo que cada potencial de acción ocurre en el tiempo t_{kj} . m corresponde a la cantidad de aferencias externas recibidas en la red; W_{ji} representa los pesos sinápticos de interneuronas y W_{dmi} los pesos sinápticos para las aferencias externas, como aferentes del nervio SP o de la MLR (d_{mi}).

Por último, \bar{g}_E y \bar{g}_I corresponden a las conductancias excitadoras e inhibitoras máximas para cada sinapsis; \bar{g}_{Ed} y \bar{g}_{Id} representan las conductancias máximas dadas por cada aferencia.

Todas las simulaciones fueron realizadas mediante la implementación de un código usando Python 3.10, cuyo lenguaje de programación de alto nivel tiene la bondad de ser *open source* y la distribución de sus paquetes, así como de software, son gratuitos. El programa está codificado en el entorno de desarrollo integrado (IDE) PyCharm en su edición 2023.2.1.

Para la solución de las ecuaciones diferenciales se empleó el método de integración de Euler con un tamaño de paso fijo de 0.01 ms. A su vez, la variabilidad de datos fue generada mediante una distribución aleatoria sobre las desviaciones estándar de cada potencial de membrana en reposo de cada neurona.

Los valores específicos para los potenciales de inversión, conductancias máximas y pesos sinápticos, así como las expresiones completas de las variables de estado, se encuentran en los apéndices.

7. Resultados

7.1 Simulación de un CPG de dos niveles

La primera aproximación para un modelo realista consiste en generar la actividad rítmica y sostenida de una población de interneuronas inducida por la excitación tónica de la MLR; donde las ráfagas de los RGs determinan la duración de las fases y la frecuencia del ciclo locomotriz. Cada uno de los centros en la red (ver Figura 12) debe de conservar la sincronía entre redes homónimas y alternancia entre redes antagonistas (flexión y extensión) (Figura 18).

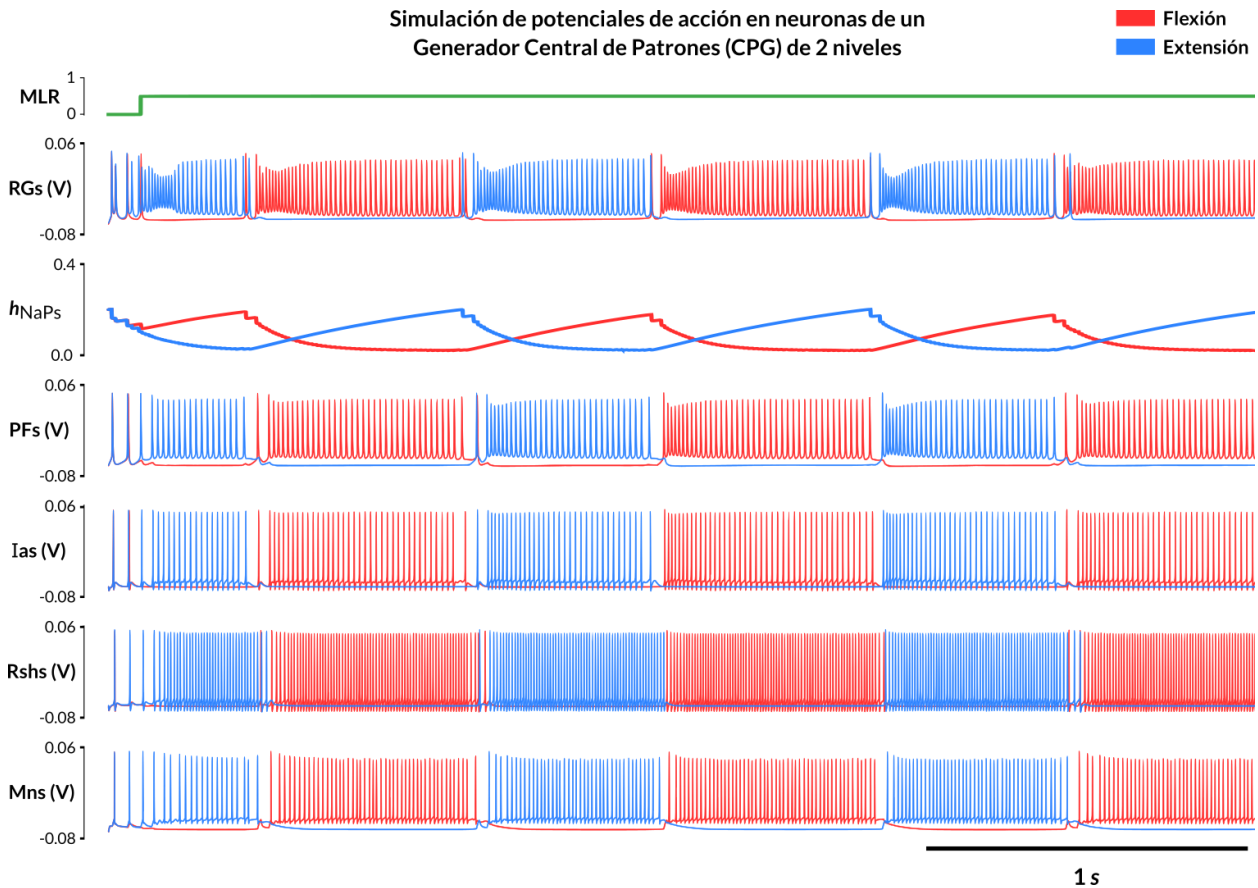


Figura 18. Modelo de un CPG de 2 niveles con actividad neuronal de las poblaciones que lo conforman. De arriba abajo; activación de la MLR (verde); actividad alternada de interneuronas generadoras del ritmo (RG; hemicentro flexor en rojo y hemicentro extensor en azul) durante un episodio locomotriz; variable de inactivación (h_{NaP}) de la corriente persistente de Na^+ ; y actividad alternada en las interneuronas PF, Ia, Rsh y Mns, respectivamente. Las neuronas flexoras (rojo) se activan alternadamente con sus antagonistas extensoras (azul). Se muestra la actividad en ráfaga de una sola neurona para cada estirpe.

Del mismo modo, se puede observar la dinámica de inactivación lenta de la I_{NaP} en las neuronas generadoras del ritmo, pues juega un papel importante en la ritmicidad. En cuanto a

las interneuronas río abajo, su comportamiento está controlado por las neuronas RG, y se observa la sincronía con respecto a las fases extensora y flexora.

Se simularon 20 neuronas para cada estirpe neuronal y se dotaron de variabilidad modificando su potencial de fuga (E_L) individualmente; de modo que se modificara su excitabilidad, se activaran con distintos umbrales y dispararan con patrones diferentes. La Figura 19 muestra la variabilidad de población de 20 neuronas flexoras y 20 neuronas extensoras del RG (*rasters*) durante un episodio breve de locomoción y las ráfagas de potenciales de acción de dos neuronas que coinciden con el patrón observado en los *rasters*. Nótese la alternancia entre la población de neuronas RG-F y RG-E.

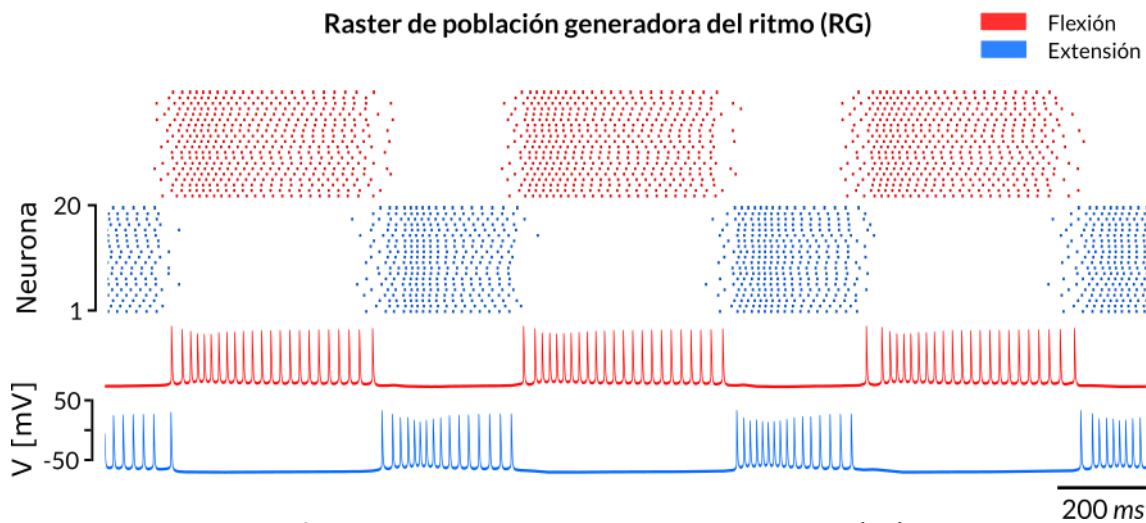


Figura 19. Variabilidad de patrón de disparo en neuronas generadoras del ritmo (RG). De arriba hacia abajo, se muestra la cuantización (*rasters*) de eventos ocurridos (potenciales de acción) mediante puntos para cada una de las 20 interneuronas que conforman la población RG (flexora, en rojo, y extensora, en azul). Las ráfagas de potenciales de acción de dos neuronas pertenecientes a la red RG-F y RG-E alternan entre sí y representan la actividad que ocurre en todas las poblaciones de neuronas.

Se diseñó, a su vez, un programa que calcula los histogramas de actividad (frecuencia de disparo) promedio de cada población de neuronas en ventanas de tiempo de 30 o 40 ms; con el fin de emular los registros electrofisiológicos rectificadas e integradas de señales electroneurográficas durante la locomoción ficticia en el gato (Rybak *et al.*, 2006; ver Prochazka, 1996).

La Figura 20A muestra el efecto producido por la estimulación de la MLR de manera simétrica, *i.e.* de igual magnitud, en los dos hemicentros, generando actividad flexora y extensora de duración semejante para cada población. En la Figura 20B se modificó la estimulación de la

MLR en los hemicentros de forma asimétrica, generando un ciclo locomotriz con una flexión de mayor duración. Por otro lado, se consigue el efecto opuesto si se aumenta la activación por la MLR del hemicentro extensor (Figura 20C).

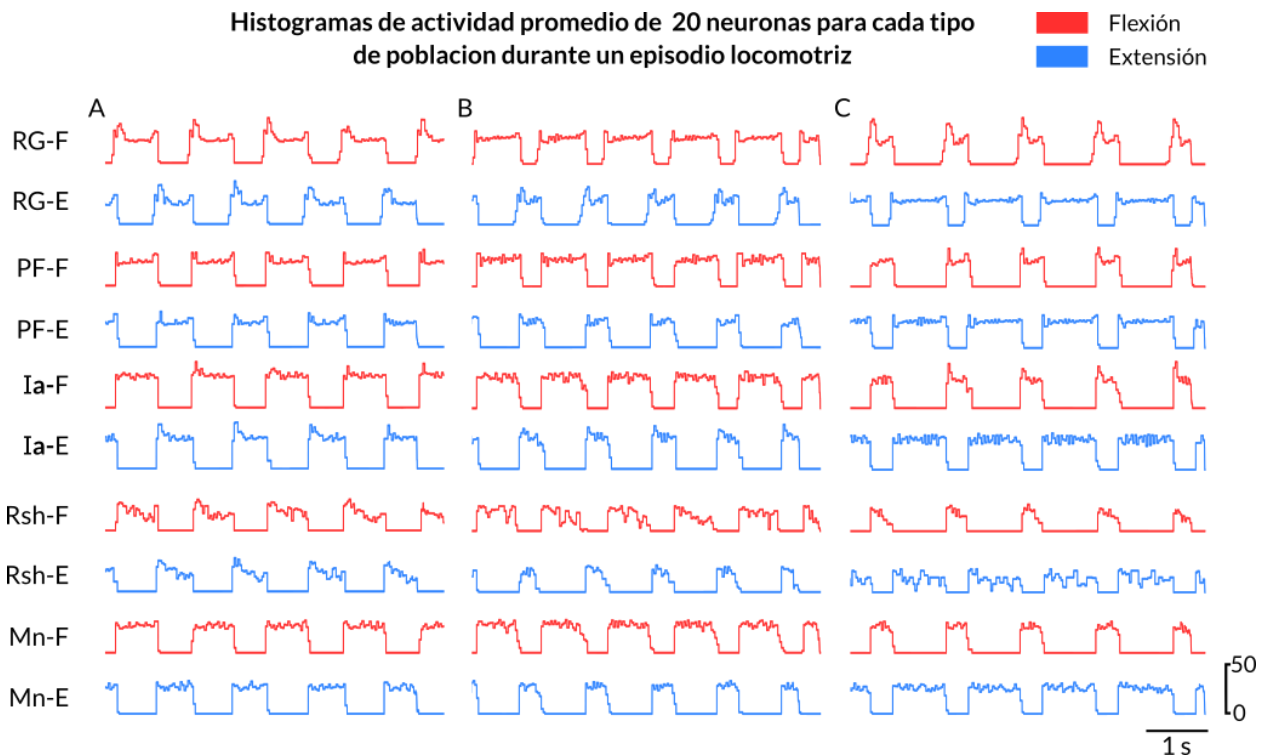


Figura 20. Simulación de la actividad promedio de una población de 20 neuronas. Los trazos corresponden a histogramas promedio de los potenciales de acción de las distintas poblaciones de neuronas en *bins* de 30 ms. Los parámetros empleados para la estimulación de la MLR, fue diferente para cada hemicentro con los siguientes valores (*dmi*): **A**) RG-F: 0.52, RG-E: 0.51; **B**) RG-F: 0.53, RG-E: 0.48; **C**) RG-F: 0.47, RG-E: 0.53. Ver apéndice en la Tabla 3.

La Figura 21A muestra la respuesta al sobreestimar el hemicentro del ritmo extensor (RG-E), cuyo efecto principal es la modificación del ciclo locomotriz, generando un cambio de ritmo o *resetting* hacia la extensión y prolongando la duración de esta fase. Se observa como la actividad de los elementos extensores se sostiene y prolonga aproximadamente 1.0 s, y se suspende la actividad en todas las poblaciones de neuronas flexoras. Además, se produce un cambio en la temporalidad; *i.e.* un cambio de fase en el ciclo locomotriz.

Por otro lado, si se reduce la excitabilidad de las interneuronas en la red formadora de patrones flexora (PF-F), se disminuye el efecto de esta red sobre los elementos flexores río abajo, sin afectar la actividad de los RGs ni la temporalidad del ciclo locomotriz (no hay *resetting*). Los componentes flexores quedan silentes y los extensores prácticamente no se ven poco afectados.

Sin embargo, una vez recuperada la excitabilidad del PF flexor, el ritmo se restablece sin cambios de fase, pues las interneuronas RG mantienen la temporalidad del ritmo (Figura 21B).

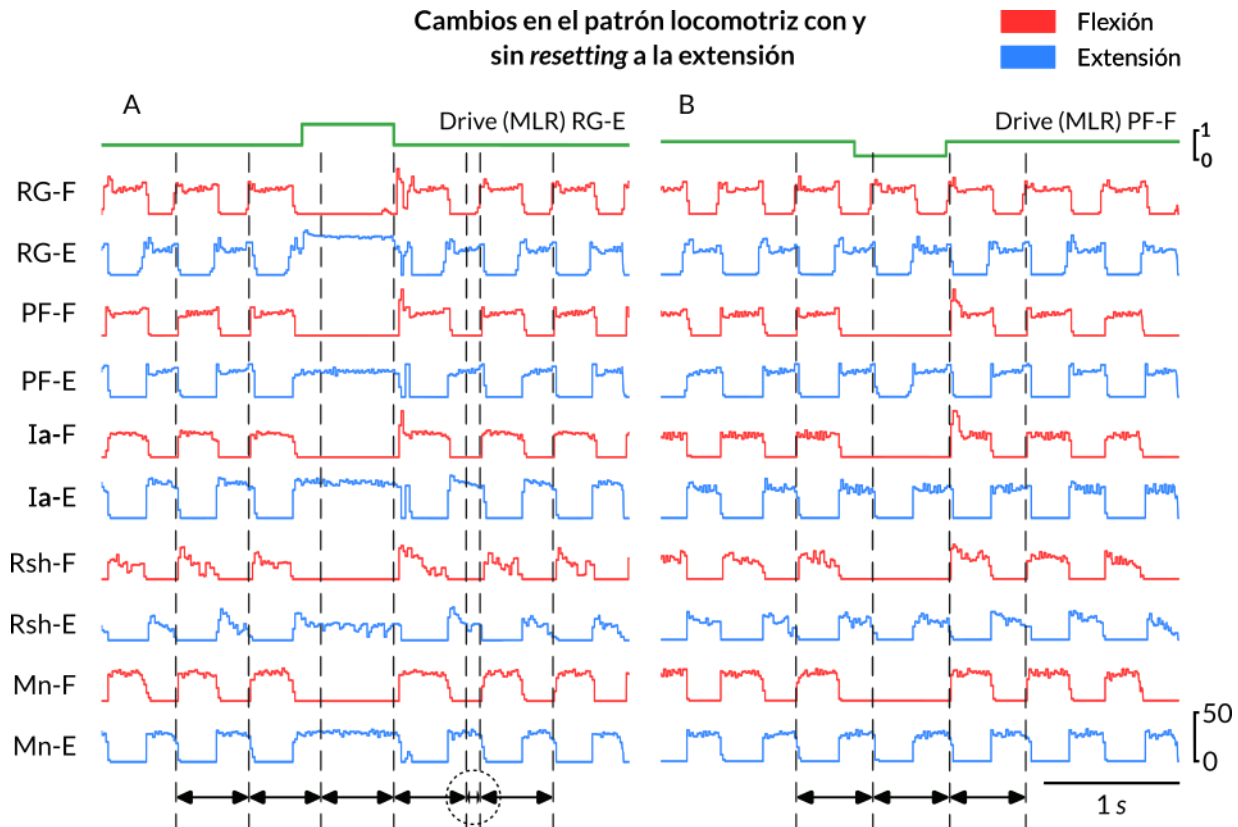


Figura 21. Efecto de cambios en la excitación de interneuronas del CPG sobre el patrón locomotriz. **A)** La sobreestimulación de la MLR al hemicentro extensor del RG produce una actividad sostenida con un cambio de fase del ciclo locomotriz (*resetting* hacia la extensión). Nótese la supresión de la flexión y el cambio de fase indicado por el círculo punteado. **B)** Reducción en la excitación de las neuronas PF flexoras. Se observa una disminución en la actividad de los componentes flexores de la PF y de las Mn, sin cambios en la actividad de las neuronas RG, ni en la temporalidad del ciclo locomotriz (no hay *resetting*). Nótese que la actividad en las motoneuronas extensoras no se ve muy afectada. Parámetros empleados para la MRL (*dmi*): RG-F:0.51, RG-E:0.50 (1.20), PF-F:0.50, PF-E:0.50 (0.10).

7.2 Modelo neuronal de la articulación del tobillo para la reacción de corrección del tropiezo

A partir de la red neuronal propuesta por Quevedo *et al.* (2005b), y empleando el modelo de CPG de 2 niveles propuesta por Rybak *et al.* (2006a) como base, se incorporaron neuronas para replicar la reacción de corrección del tropiezo en la articulación del tobillo (Figura 22).

En el modelo de CPG de base se incluyeron las neuronas excitadoras E1 y E2 que son activadas monosinápticamente por aferentes del nervio peroneo superficial (SP). Además, integraron 2 interneuronas inhibitorias (I1 e I2) que son, a su vez, excitadas por la interneurona E2. Es preciso mencionar que la interneurona excitadora E3 no está considerada explícitamente

en la red neuronal de corrección del tropiezo propuesta por Quevedo *et al.* (2005b); sin embargo, sí se contempló el acceso de aferentes del SP al CPG y fue necesario agregarla para lograr una actividad prolongada en el hemicentro flexor posterior a la excitación del nervio SP (ver discusión).

La estimulación del nervio SP activa monosinápticamente las interneuronas E1, E2 y E3. La interneurona E2, a su vez, excita directamente al *pool* de motoneuronas flexoras TA del tobillo, a las interneuronas I1, I2 y al *pool* de motoneuronas extensoras GS del tobillo. La interneurona E1 está interpuesta entre SP y E2, y se propuso a partir del componente disináptico de los EPSPs registrados en las motoneuronas TA (Quevedo *et al.*, 2005b).

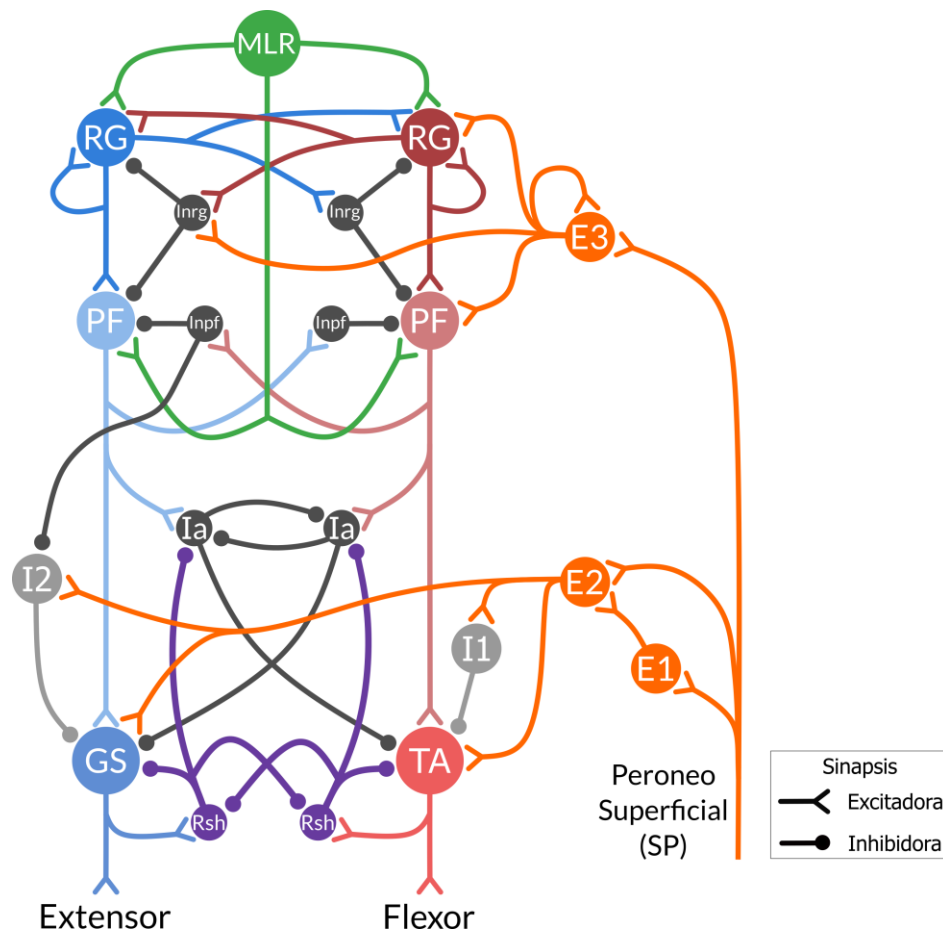


Figura 22. Red neuronal involucrada en los efectos producidos por la estimulación del nervio peroneo superficial (SP) durante la locomoción. La estimulación del nervio SP activa monosinápticamente a las interneuronas excitadoras E1, E2 y E3. La interneurona E1 hace conexión directa con la interneurona E2 y ésta a su vez con las interneuronas inhibitorias I1, I2 y las motoneuronas TA y GS. Las neuronas I1 e I2 inhiben a las motoneuronas TA y GS, respectivamente. E3 se excita de manera recurrente y activa el hemicentro flexor a nivel del RG y PF. Note que la interneurona I2 se encuentra inhibida durante la fase de flexión y que la interneurona E3 inhibe el hemicentro extensor a través de una interneurona Inrg.

La interneurona E3 tiene el papel de prolongar la fase flexora excitando directamente el CPG en el hemicentro RG y PF flexor. La prolongación de la fase flexora se produjo al incrementar la inhibición que recibe el RG-E, por medio de un aumento en la actividad de la interneurona inhibidora interpuesta (Inrg).

A fin de prolongar la actividad del hemicentro flexor al término del estímulo al nervio SP, se prolongó la actividad de la interneurona E3 al proveerla de una excitación recurrente y fue simulada en una configuración de doble compartimento, similar al de las motoneuronas, aunque las conductancias iónicas máximas se ajustaron con la finalidad de prolongar la ráfaga de potenciales de acción de la población.

7.3 Simulación de la reacción de corrección del tropiezo considerando las vías neuronales propuestas

La aplicación de un estímulo en el nervio SP durante la fase de flexión de un ciclo locomotriz simulado, produjo un incremento en la actividad de la población de neuronas del RG-F y PF-F comparada con la actividad de los ciclos no estimulados (Figura 23), y una prolongación de la actividad flexora en estas poblaciones (~ 500 ms) más allá de la terminación del estímulo al nervio. Concomitantemente, durante el estímulo al nervio SP se observa el patrón característico de inactivación de las Mn-TA y una activación abrupta de las Mn-GS, de mayor amplitud respecto al control. Además, se produjo un adelanto de la fase de flexión subsiguiente con un retardo en el inicio de la extensión, *i.e.* un *resetting* hacia la flexión que indica un cambio de fase del ritmo locomotriz. Se puede notar que hubo también un incremento en la amplitud de la actividad flexora subsiguiente, mientras que la extensora se suprimió. Todas estas características replican la reacción de corrección del tropiezo observada experimentalmente.

Con respecto al perfil de activación de las interneuronas involucradas en la corrección del tropiezo, nótese que: i) sólo la interneurona E1 tiene actividad espontánea antes y después de producir el tropiezo, ii) las demás interneuronas sólo se activan durante la estimulación del nervio SP y iii) la interneurona E3, sin embargo, prolonga su descarga un tiempo después del estímulo (ver adelante).

Se aprecia como la frecuencia de disparo de las interneuronas conectadas en serie E1, E2 e I1 (Figura 23) va *in crescendo*, con valores de 52, 111 y los 250 Hz, respectivamente. Por su

parte, la interneurona I2 posee una frecuencia de disparo que ronda en los 100 Hz, y la respuesta de la interneurona E3 comienza con una frecuencia de disparo rápida (167 Hz) que disminuye gradualmente (debido a la inactivación de los canales persistentes de sodio) hasta el punto en que deja de disparar. La actividad de la interneurona E3 persiste durante 500 ms aproximadamente.

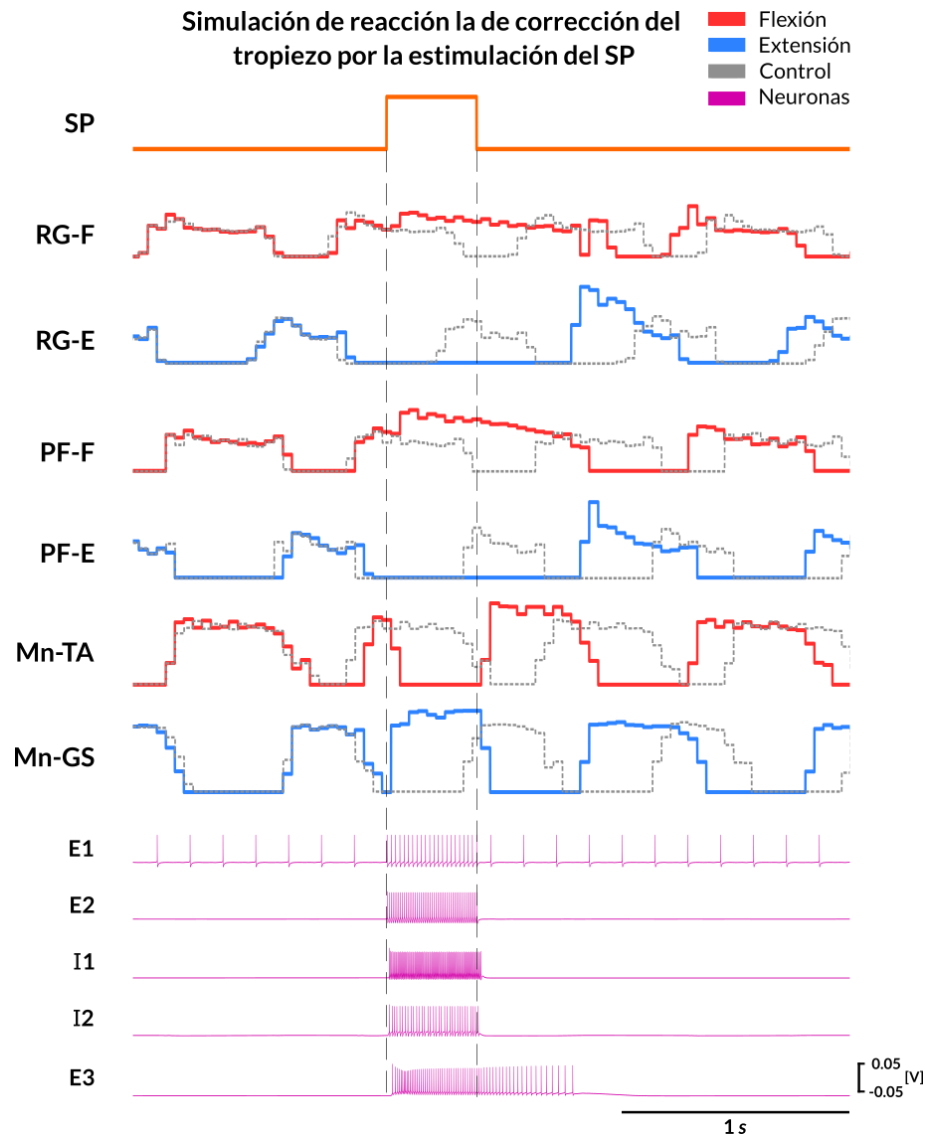


Figura 23. Perfil de disparo de poblaciones de neuronas durante la simulación de la reacción de corrección del tropiezo. En orden descendente se muestra el estímulo al nervio SP (naranja), los histogramas de actividad de las RG-F, RG-E, PF-F, PF-E, Mn-TA, Mn-GS. Los elementos flexores de muestran en rojo y los extensores en azul. Los trazos sólidos corresponden a la reacción de corrección del tropiezo y los trazos punteados a los ciclos control. Los bins están ajustados a la actividad neuronal promedio en ventanas de 40 ms. La excitabilidad de las Mn-TA y Mn-GS se incrementó mediante un aumento de +10 mV en el potencial de fuga E_L después y durante el estímulo de SP, respectivamente. En el panel inferior, se muestra el perfil de disparo de potenciales de acción (morado) en neuronas individuales de las poblaciones E1, E2, I1, I2 y E3.

7.4 Simulación de la reacción de prevención del tropiezo considerando las vías neuronales propuestas

La estimulación del nervio SP durante la fase de extensión de un ciclo de locomoción simulado produce la reacción de prevención del tropiezo (Figura 24). A diferencia de la respuesta de corrección del tropiezo, el estímulo del SP sobre la fase extensora provocó una inhibición de la fase activa en la población neuronal del RG-E y un adelanto de la actividad en el RG-F. Concomitantemente, la actividad del PF-E se vio disminuida rápidamente, mientras que la población de PF-F aumentó su actividad con respecto a la situación control. Ambas poblaciones flexoras del CPG prolongaron su actividad, más allá de la duración del estímulo a SP.

Por otro lado, ya que el estímulo fue aplicado sobre la extensión, era de esperarse que las Mn-TA estuvieran inactivas; sin embargo, la actividad en curso de las Mn-GS aumentó durante el estímulo del nervio SP, respecto a la condición basal. Ello se atribuye a i) que las Mn-GS se encuentran en su fase activa, *i.e.* son más excitables, y ii) las interneuronas excitadoras E2 activan a las Mn-GS, contrarrestando la inhibición debida a la activación del hemicentro flexor por la población de interneuronas E3 (Figura 22). Debe enfatizarse el incremento en la actividad flexora subsiguiente al estímulo en Mn-TA, el cual se prolongó durante 500 ms produciendo un cambio de fase; *i.e.*, un *resetting* hacia la flexión. Este patrón de actividad en las motoneuronas de la articulación del tobillo (TA y GS) es característico de la **reacción de prevención del tropiezo** en la locomoción ficticia del gato (Quevedo *et al.*, 2005a, b).

En relación con el perfil de activación de las interneuronas, éstas mostraron un patrón de actividad similar al observado en la Figura 23, con frecuencias de disparo análogas y una duración prolongada de la población E3, que permite extender la fase de flexión subsiguiente al estímulo del nervio SP. Ello no es de extrañar, ya que las conexiones de las aferentes del SP no deberían modificarse, en principio, y lo que cambia es la excitabilidad de las motoneuronas. Sin embargo, no se debe descartar la modulación presináptica de las aferentes cutáneas durante la locomoción.

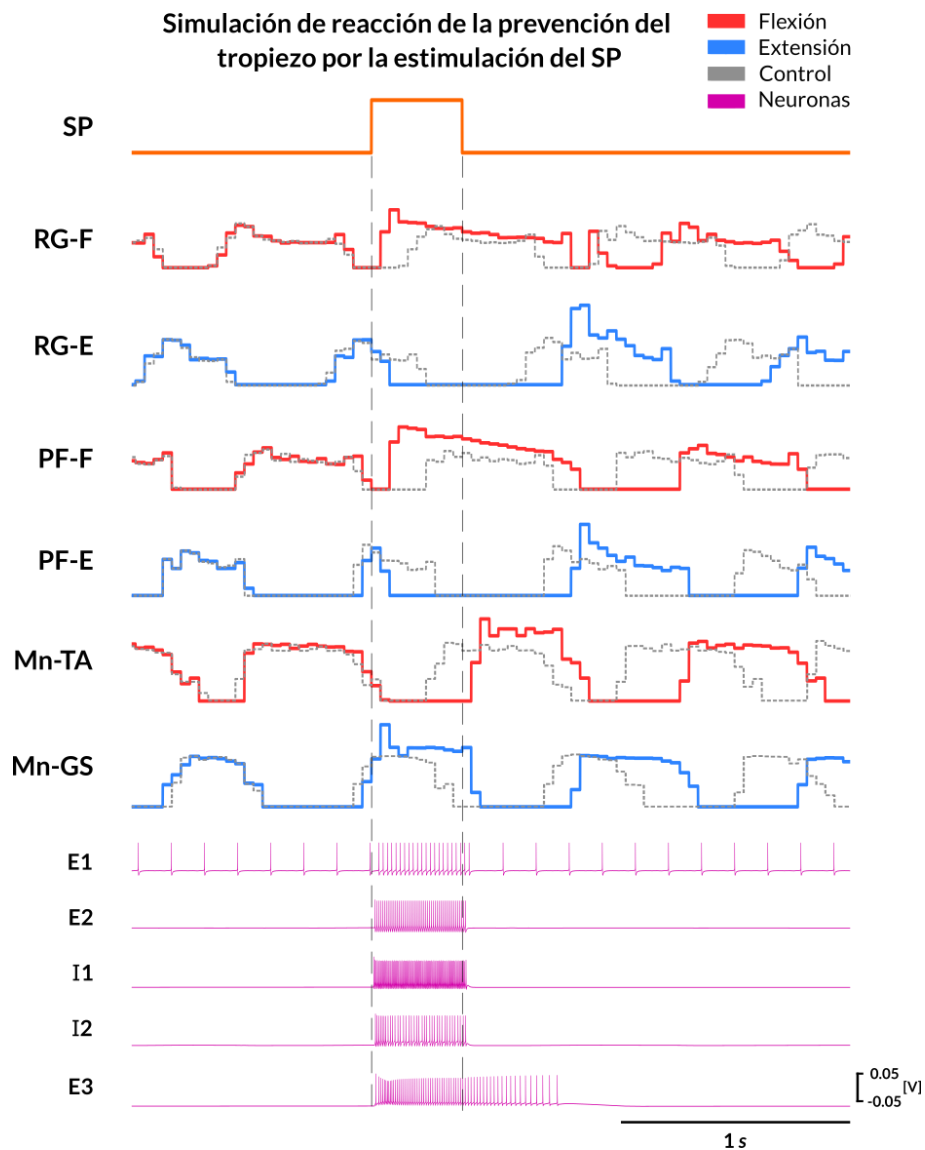


Figura 24. Perfil de disparo de poblaciones de neuronas durante la simulación de la reacción de prevención del tropiezo. Mismo formato que en la Figura 23. *De arriba abajo*, estímulo al nervio SP (*naranja*) e histogramas de actividad de las RG-F, RG-E, PF-F, PF-E, Mn-TA, Mn-GS. Los elementos flexores de muestran en *rojo* y los extensores en *azul*. Los trazos sólidos corresponden a la reacción de prevención del tropiezo y los trazos punteados a los ciclos control. Los bins están ajustados a la actividad neuronal promedio en ventanas de 40 ms. Se incrementó la excitabilidad de las Mn-TA y Mn-GS mediante un aumento de +10 mV en el potencial de fuga E_L después y durante el estímulo del nervio SP, respectivamente. En el *panel inferior*, se muestra el perfil de disparo de potenciales de acción (*morado*) en neuronas individuales de las poblaciones E1, E2, I1, I2 y E3.

8. Discusión

El presente trabajo estuvo enfocado al desarrollo de un modelo realista del CPG de la locomoción y su modulación por la información sensorial cutánea de bajo umbral, en particular por las fibras aferentes que inervan el dorso de la pata posterior, cuya activación produce un

reflejo estereotipado conocido como **reacción de corrección del tropiezo**. El interés en este reflejo fue la simulación de las vías neuronales involucradas y la predicción de su perfil de activación para su posterior identificación experimental. La caracterización de las propiedades biofísicas y de disparo de las neuronas del CPG y de las interneuronas propuestas se calcularon partiendo de la perspectiva clásica del modelo de Hodgkin y Huxley (1952).

En primera instancia, se modeló un CPG de dos niveles que fungiera como plataforma que replicara los hemicentros flexor y extensor inhibidos recíprocamente (Graham Brown, 1911) y la alternancia característica del ritmo locomotriz (Figura 18). Posteriormente, se diseñó un algoritmo que representara la forma en que se visualizaría la actividad neuronal rectificadas e integrada en preparaciones experimentales mediante histogramas de actividad promedio para cada población neuronal (Figura 19). Consecuentemente, se realizaron pruebas en las que se analizaron los diferentes efectos generados por aumentos o disminuciones en la activación producida por la MLR sobre el ritmo locomotriz (Figura 20 y Figura 21). A partir de esta plataforma base se incorporaron conexiones y poblaciones neuronales implicadas en la reacción de corrección del tropiezo propuestas a partir de datos experimentales (Figura 22).

El CPG de dos niveles propuesto por Rybak *et al.* (2006a) fue desarrollado de origen en un lenguaje de programación (Python) que permitiera modificar rápidamente parámetros y funciones para solucionar simultáneamente el complejo sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias. Aunque existe *software* (*e.g.*, NEURON, desarrollado por la universidad de Yale) que permite diseñar redes y agregar nuevas propiedades biofísicas a neuronas modeladas bajo el mismo lenguaje de programación, aún conserva instrucciones de lenguajes poco usados actualmente (HOC); de ahí la importancia de diseñar un programa *de novo*.

Conduciéndonos en el modelo, este tiene la facilidad de incorporar distintos tipos de neuronas, modificar pesos sinápticos, agregar nuevas conexiones y demás variables que puedan reproducir tareas o respuestas locomotrices (*e.g.*, el efecto modulador de las aferencias propioceptivas durante la locomoción) (Rybak *et al.*, 2006b).

Los reflejos de corrección y prevención del tropiezo generan respuestas no lineales en las extremidades, debidas a las múltiples conexiones oligosinápticas y aferencias que reciben las motoneuronas al activar las aferentes del nervio SP (Figura 22) (Quevedo *et al.*, 2005a, b). No

obstante, proporcionan una respuesta conservada y congruente para una adaptación inmediata ante un entorno desequilibrante; lo cual implica un reto en la caracterización y búsqueda de las neuronas involucradas.

El perfil de activación o frecuencia de disparo de las neuronas modeladas (Figura 23 y Figura 24) nos ayuda a marcar el camino de inicio para la exploración electrofisiológica de las neuronas capaces de modular el CPG por las aferencias cutáneas provenientes del dorso de la pata a través del nervio SP. Una vez caracterizadas electrofisiológicamente, se pueden llevar hacia su identificación molecular y estudiar la función de poblaciones específicas de neuronas durante la locomoción con abordajes quimiogénéticos, optogénéticos, ablaciones, etc.

Es pertinente mencionar que la respuesta neuronal simulada es una combinación entre pesos sinápticos y sumaciones temporales de una población de neuronas, lo cual proporciona una amplia gama de grados de libertad en las frecuencias de disparo y en las interacciones sinápticas entre ellas. Empero, la realidad es que se pueden lograr resultados similares modificando equilibradamente los parámetros anteriormente mencionados y obtener como salida el mismo patrón de actividad. En este trabajo no se exploró la diversidad de patrones y/o perfiles de activación neuronal que podrían replicar el fenómeno; sin embargo, sería un buen ejercicio considerar para futuros trabajos funciones de optimización de parámetros que aproximen el modelo a una situación más estable y parsimoniosa.

El incremento en el reclutamiento de motoneuronas por la estimulación del nervio SP durante la corrección y prevención del tropiezo se simuló aumentando la excitabilidad de las motoneuronas, lo que resultó en un aumento de la amplitud ENG de GS (durante el estímulo) y de TA (al término del estímulo) (Forsberg, 1979; Quevedo *et al.*, 2005a, b; Wand *et al.*, 1980).

Fue conveniente añadir una tercera interneurona excitadora (E3, Figura 22) con múltiples accesos al CPG, que supone la propuesta teórica de una neurona de primer orden activada por las aferentes cutáneas del SP y que es capaz de modular el CPG. Si bien, durante un episodio de locomoción muchas poblaciones neuronales se encuentran con alguna actividad de fondo, el papel funcional de esta interneurona sólo toma importancia ante la excitación de SP. Del trabajo realizado por Omeniuk (1990), y con base en los resultados presentados, la interneurona E3

tendría que localizarse en los núcleos dorsal profundo e intermedio a nivel de los segmentos espinales L6-L7.

Sabemos que la corrección del tropiezo no involucra una sola articulación y que es esencial replicar el fenómeno considerando las tres articulaciones (cadera, rodilla y tobillo). No obstante, las respuestas de motoneuronas que inervan músculos flexores y extensores de la cadera y la rodilla son más uniformes comparadas con las del tobillo, de modo que el presente trabajo se restringió a modelar esta única articulación como una primera aproximación.

Partiendo de la perspectiva clásica del modelo de Hodgkin y Huxley, en el que se puede conocer el potencial de membrana a partir de la suma de las distintas corrientes iónicas, es relativamente fácil robustecer los modelos neuronales mecanísticos o realistas con otras corrientes involucradas en la ritmicidad (corrientes marcapaso) (Chalif *et al.*, 2022; Lee y Heckman, 2001; Wang *et al.*, 2011) y simular los efectos producidos por neuromoduladores de la excitabilidad. Estos modelos permiten un entendimiento más directo de las redes neuronales desde el punto de vista neurofisiológico, por ejemplo, para predecir el perfil “exacto” de una interneurona hipotética.

Sin embargo, es preciso recalcar que, aunque se podrían añadir una gran cantidad de propiedades biofísicas iónicas de diversas estirpes neuronales, con la intención de generar un modelo más realista, el costo computacional se elevaría y las variables a considerar generarían un sistema muy complejo. Es por ello que existen otros modelos que estudian la dinámica neuronal desde una perspectiva más cualitativa y no tan determinista (Fitzhugh, 1966; Izhikevich, 2007).

Algunos modelos neuronales para la locomoción simulan las respuestas de salida (electroneurogramas), sin la necesidad de generar potenciales de acción, considerando funciones que correlacionan directamente la envolvente y la duración de las “oscilaciones rítmicas”; así como variables de excitación, recuperación y adaptabilidad que proveen de ritmicidad, alternancia y variabilidad. Estos modelos se han empleado para generar redes neuronales extensas y complejas, sin detrimento de las respuestas globales (ver Ausborn *et al.*, 2019; Danner *et al.*, 2017 y Kim *et al.*, 2022).

Pese a que el abordaje mecanístico no es el más óptimo, contribuye al entendimiento de procesos biofísicos en condiciones fisiológicas que involucran respuestas heterogéneas, como el comportamiento de los circuitos neuronales durante la estimulación eléctrica epidural (Capogrosso *et al.*, 2013).

9. Conclusiones

- La perspectiva determinista fue apropiada para el modelado de circuitos neuronales complejos, como el CPG.
- El modelo realista del CPG basado en una arquitectura con dos hemicentros y dos niveles, nos brindó una plataforma en la cual podemos incorporar vías interneuronales con base en datos experimentales, en particular aquellas involucradas en la reacción de corrección del tropiezo.
- Se logró reproducir apropiadamente las respuestas estereotípicas de corrección y prevención del tropiezo en la articulación del tobillo, tomando en consideración las vías neuronales propuestas.
- Se obtuvo una simulación de las interneuronas involucradas en la reacción de corrección del tropiezo que será de utilidad para identificar y clasificar electrofisiológicamente neuronas registradas experimentalmente.
- Finalmente, para un entendimiento integral de la fisiología y patología del sistema nervioso, además de los abordajes actuales, es de suma importancia impulsar más el desarrollo de las neurociencias computacionales para el estudio de fenómenos tan relevantes como la locomoción.

10. Perspectivas

- Diseñar un modelo de CPG que controle la actividad muscular de tres articulaciones y dos extremidades.
- Incorporar la dinámica de la contracción muscular y la cinemática locomotriz en un modelo bípedo.
- Proponer una función de control que modifique los pesos sinápticos automáticamente para un mejor ajuste del modelo, posiblemente con herramientas de inteligencia artificial.

11. Referencias

1. Angel, M., Jankowska, E., & McCrea, D. (2005). Candidate interneurons mediating group I disynaptic EPSPs in extensor motoneurons during fictive locomotion in the cat. *The Journal of physiology*, 563(2), 597–610.
2. Ausborn, J., Shevtsova, N. A., Caggiano, V., Danner, S. M., & Rybak, I. A. (2019). Computational modeling of brainstem circuits controlling locomotor frequency and gait. *eLife*, 8, e43587. <https://doi.org/10.7554/eLife.43587>
3. Berg, R. W., Alaburda, A., & Hounsgaard, J. (2007). Balanced inhibition and excitation drive spike activity in spinal half-centers. *Science (New York, N.Y.)*, 315(5810), 390–393. <https://doi.org/10.1126/science.1134960>
4. Booth, V., Rinzell, J., & Kiehn, O. (1997). Compartmental model of vertebrate motoneurons for Ca²⁺-dependent spiking and plateau potentials under pharmacological treatment. *Journal of Neurophysiology*, 78(6), 3371–3385.
5. Brown, T. G. (1911). The intrinsic factors in the act of progression in the mammal. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, containing papers of a biological character*, 84(572), 308–319.
6. Capelli, P., Pivetta, C., Soledad Esposito, M., & Arber, S. (2017). Locomotor speed control circuits in the caudal brainstem. *Nature*, 551(7680), 373–377. <https://doi.org/10.1038/nature24064>
7. Capogrosso, M., Wenger, N., Raspopovic, S., Musienko, P., Beauparlant, J., Luciani, L. B., Courtine, G., & Micera, S. (2013). A Computational Model for Epidural Electrical Stimulation of Spinal Sensorimotor Circuits. *Journal of Neuroscience*, 33(49), 19326–19340. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1688-13.2013>
8. Cazalets, J. R. (2005). Metachronal propagation of motoneurone burst activation in isolated spinal cord of newborn rat. *The Journal of Physiology*, 568(Pt 2), 583–597. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.086850>
9. Chalif, J. I., Martínez-Silva, M. de L., Pagiazitis, J. G., Murray, A. J., & Mentis, G. Z. (2022). Control of mammalian locomotion by ventral spinocerebellar tract neurons. *Cell*, 185(2), 328–344.e26. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.12.014>
10. Cooper, S., & Sherrington, C. S. (1940). Gower's tract and spinal border cells. *Brain*, 63(2), 123–134. <https://doi.org/10.1093/brain/63.2.123>
11. Crone, S. A., Quinlan, K. A., Zagoraiou, L., Droho, S., Restrepo, C. E., Lundfald, L., Endo, T., Setlak, J., Jessell, T. M., Kiehn, O., & Sharma, K. (2008). Genetic Ablation of V2a Ipsilateral Interneurons Disrupts Left-Right Locomotor Coordination in Mammalian Spinal Cord. *Neuron*, 60(1), 70–83. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.08.009>
12. Danner, S. M., Shevtsova, N. A., Frigon, A., & Rybak, I. A. (2017). Computational modeling of spinal circuits controlling limb coordination and gaits in quadrupeds. *eLife*, 6. <https://doi.org/10.7554/eLife.31050>

13. Domínguez-Rodríguez, L. E., Stecina, K., García-Ramírez, D. L., Mena-Avila, E., Milla-Cruz, J. J., Martínez-Silva, L., Zhang, M., Hultborn, H., & Quevedo, J. N. (2020). Candidate Interneurons Mediating the Resetting of the Locomotor Rhythm by Extensor Group I Afferents in the Cat. *Neuroscience*, *450*, 96–112. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.09.017>
14. Dougherty, K. J., Zagoraïou, L., Satoh, D., Rozani, I., Doobar, S., Arber, S., Jessell, T. M., & Kiehn, O. (2013). Locomotor Rhythm Generation Linked to the Output of Spinal Shox2 Excitatory Interneurons. *Neuron*, *80*(4), 920–933. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.08.015>
15. Endo, T., & Kiehn, O. (2008). Asymmetric operation of the locomotor central pattern generator in the neonatal mouse spinal cord. *Journal of Neurophysiology*, *100*(6), 3043–3054. <https://doi.org/10.1152/jn.90729.2008>
16. Fitzhugh, R. (1966). Mathematical Models of Excitation and Propagation in Nerve. Schwan H.P. Ed., *Biological Engineering*, McGraw Hill, New York.
17. Forssberg, H. (1979). Stumbling corrective reaction: A phase-dependent compensatory reaction during locomotion. *Journal of Neurophysiology*, *42*(4), 936–953.
18. Forssberg, H., Grillner, S., & Rossignol, S. (1977). Phasic gain control of reflexes from the dorsum of the paw during spinal locomotion. *Brain Research*, *132*(1), 121–139.
19. Gossard, J. P., Cabelguen, J. M., & Rossignol, S. (1991). An intracellular study of muscle primary afferents during fictive locomotion in the cat. *Journal of Neurophysiology*, *65*(4), 914–926. <https://doi.org/10.1152/jn.1991.65.4.914>
20. Gossard, J.-P., Brownstone, R., Barajon, I., & Hultborn, H. (1994). Transmission in a locomotor-related group Ib pathway from hindlimb extensor muscles in the cat. *Experimental brain research*, *98*, 213–228.
21. Grillner, S. (1975). Locomotion in vertebrates: Central mechanisms and reflex interaction. *Physiological reviews*, *55*(2), 247–304. <https://doi.org/10.1152/physrev.1975.55.2.247>
22. Grillner, S. (1981). Control of locomotion in bipeds, tetrapods, and fish. *Comprehensive physiology*, 1179–1236.
23. Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of physiology*, *117*(4), 500.
24. Hodgkin, A. L., & Katz, B. (1949). The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *The Journal of Physiology*, *108*(1), 37–77.
25. Hurteau, M.-F., Thibaudier, Y., Dambreville, C., Danner, S. M., Rybak, I. A., & Frigon, A. (2018). Intralimb and Interlimb Cutaneous Reflexes during Locomotion in the Intact Cat. *Journal of Neuroscience*, *38*(17), 4104–4122. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3288-17.2018>
26. Izhikevich, E. M. (2003). Simple model of spiking neurons. *IEEE Transactions on Neural Networks*, *14*(6), 1569–1572. <https://doi.org/10.1109/tnn.2003.820440>
27. Izhikevich, E. M. (2007). *Dynamical systems in neuroscience: The geometry of excitability and bursting*. MIT press.

28. Jankowska, E. (1992). Interneuronal relay in spinal pathways from proprioceptors. *Progress in Neurobiology*, 38(4), 335–378. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(92\)90024-9](https://doi.org/10.1016/0301-0082(92)90024-9)
29. Kandel, E. R., Koester, J. D., Mack, S. H., & Siegelbaum, S. A. (2021). Locomotion in *Principles of Neural Science* (6a ed.). McGraw Hill.
30. Kiehn, O. (2006). Locomotor circuits in the mammalian spinal cord. *Annual Review of Neuroscience*, 29, 279–306. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112910>
31. Kiehn, O., & Butt, S. J. B. (2003). Physiological, anatomical and genetic identification of CPG neurons in the developing mammalian spinal cord. *Progress in Neurobiology*, 70(4), 347–361. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(03\)00091-1](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(03)00091-1)
32. Kiehn, O., & Dougherty, K. (2013). Locomotion: Circuits and Physiology. En D. W. Pfaff (Ed.), *Neuroscience in the 21st Century: From Basic to Clinical* (pp. 1209–1236). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1997-6_42
33. Kim, Y., Aoi, S., Fujiki, S., Danner, S. M., Markin, S. N., Ausborn, J., Rybak, I. A., Yanagihara, D., Senda, K., & Tsuchiya, K. (2022). Contribution of Afferent Feedback to Adaptive Hindlimb Walking in Cats: A Neuromusculoskeletal Modeling Study. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 825149. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.825149>
34. Kjaerulff, O., & Kiehn, O. (1996). Distribution of Networks Generating and Coordinating Locomotor Activity in the Neonatal Rat Spinal Cord In Vitro: A Lesion Study. *Journal of Neuroscience*, 16(18), 5777–5794. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-18-05777.1996>
35. Kudo, N., & Yamada, T. (1987). N-methyl-D,L-aspartate-induced locomotor activity in a spinal cord-hindlimb muscles preparation of the newborn rat studied in vitro. *Neuroscience letters*, 75(1), 43–48. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(87\)90072-3](https://doi.org/10.1016/0304-3940(87)90072-3)
36. Lafreniere-Roula, M., & McCrea, D. A. (2005). Deletions of Rhythmic Motoneuron Activity During Fictive Locomotion and Scratch Provide Clues to the Organization of the Mammalian Central Pattern Generator. *Journal of Neurophysiology*, 94(2), 1120–1132. <https://doi.org/10.1152/jn.00216.2005>
37. Lam, T., Wolstenholme, C., van der Linden, M., Pang, M. Y. C., & Yang, J. F. (2003). Stumbling corrective responses during treadmill-elicited stepping in human infants. *The Journal of Physiology*, 553(Pt 1), 319–331. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.043984>
38. Lee, R. H., & Heckman, C. J. (2001). Essential Role of a Fast Persistent Inward Current in Action Potential Initiation and Control of Rhythmic Firing. *Journal of Neurophysiology*, 85(1), 472–475. <https://doi.org/10.1152/jn.2001.85.1.472>
39. McCrea, D. A., & Rybak, I. A. (2008). Organization of mammalian locomotor rhythm and pattern generation. *Brain research reviews*, 57(1), 134–146. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.08.006>
40. Miller, P. (2018). *An introductory course in computational neuroscience*. MIT Press.

41. Mori, S., Sakamoto, T., Ohta, Y., Takakusaki, K., & Matsuyama, K. (1989). Site-specific postural and locomotor changes evoked in awake, freely moving intact cats by stimulating the brainstem. *Brain research*, *505*(1), 66–74.
42. Nagumo, J., Arimoto, S., & Yoshizawa, S. (1962). An Active Pulse Transmission Line Simulating Nerve Axon. *Proceedings of the IRE*, *50*(10), 2061–2070.
<https://doi.org/10.1109/JRPROC.1962.288235>
43. Omeniuk, D. J. (1990). *Synaptic Effects from Cutaneous Afferents in Alpha Motoneurons*. George Washington University.
44. Perret, C., & Cabelguen, J.-M. (1980). Main characteristics of the hindlimb locomotor cycle in the decorticate cat with special reference to bifunctional muscles. *Brain Research*, *187*(2), 333–352.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(80\)90207-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(80)90207-3)
45. Philippon, M. (1905). *L'autonomie et la centralisation dans le système nerveux des animaux*. Wellcome Collection.
46. Prochazka, A. (1996). Proprioceptive Feedback and Movement Regulation. *Comprehensive Physiology* (pp. 89–127).
47. Quevedo, J., Stecina, K., Gosgnach, S., & McCrea, D. A. (2005a). Stumbling corrective reaction during fictive locomotion in the cat. *Journal of Neurophysiology*, *94*(3), 2045–2052.
48. Quevedo, J., Stecina, K., & McCrea, D. A. (2005b). Intracellular analysis of reflex pathways underlying the stumbling corrective reaction during fictive locomotion in the cat. *Journal of Neurophysiology*, *94*(3), 2053–2062.
49. Rossignol, S. (1996). Neural control of stereotypic limb movements. *Comprehensive physiology*, 173–216.
50. Rossignol, S., Dubuc, R., & Gossard, J.-P. (2006). Dynamic sensorimotor interactions in locomotion. *Physiological Reviews*, *86*(1), 89–154.
51. Rybak, I. A., Dougherty, K. J., & Shevtsova, N. A. (2015). Organization of the Mammalian Locomotor CPG: Review of Computational Model and Circuit Architectures Based on Genetically Identified Spinal Interneurons (1,2,3). *eNeuro*, *2*(5), ENEURO.0069-15.2015.
<https://doi.org/10.1523/ENEURO.0069-15.2015>
52. Rybak, I. A., Shevtsova, N. A., Lafreniere-Roula, M., & McCrea, D. A. (2006a). Modelling spinal circuitry involved in locomotor pattern generation: Insights from deletions during fictive locomotion. *The Journal of Physiology*, *577*(2), 617–639.
53. Rybak, I. A., Stecina, K., Shevtsova, N. A., & McCrea, D. A. (2006b). Modelling spinal circuitry involved in locomotor pattern generation: Insights from the effects of afferent stimulation. *The Journal of Physiology*, *577*(Pt 2), 641–658. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.118711>
54. Sherrington, C. S. (1906). *The integrative action of the nervous system* (pp. xvi, 411). Yale University Press. <https://doi.org/10.1037/13798-000>

55. Sherrington, C. S. (1910). Flexion-reflex of the limb, crossed extension-reflex, and reflex stepping and standing. *The Journal of Physiology*, 40(1–2), 28–121.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1910.sp001362>
56. Talpalar, A. E., Bouvier, J., Borgius, L., Fortin, G., Pierani, A., & Kiehn, O. (2013). Dual-mode operation of neuronal networks involved in left–right alternation. *Nature*, 500(7460), 85–88.
<https://doi.org/10.1038/nature12286>
57. Wand, P., Prochazka, A., & Sontag, K.-H. (1980). Neuromuscular responses to gait perturbations in freely moving cats. *Experimental Brain Research*, 38(1), 109–114.
58. Wang, D., Grillner, S., & Wallén, P. (2011). 5-HT and dopamine modulates CaV1.3 calcium channels involved in postinhibitory rebound in the spinal network for locomotion in lamprey. *Journal of Neurophysiology*, 105(3), 1212–1224. <https://doi.org/10.1152/jn.00324.2009>
59. Whelan, P. J., Hiebert, G. W., & Pearson, K. G. (1995). Stimulation of the group I extensor afferents prolongs the stance phase in walking cats. *Experimental Brain Research*, 103(1), 20–30.
<https://doi.org/10.1007/BF00241961>
60. Wilson, J. M., Hartley, R., Maxwell, D. J., Todd, A. J., Lieberam, I., Kaltschmidt, J. A., Yoshida, Y., Jessell, T. M., & Brownstone, R. M. (2005). Conditional Rhythmicity of Ventral Spinal Interneurons Defined by Expression of the Hb9 Homeodomain Protein. *The Journal of Neuroscience*, 25(24), 5710–5719. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0274-05.2005>
61. Zhang, J., Lanuza, G. M., Britz, O., Wang, Z., Siembab, V. C., Zhang, Y., Velasquez, T., Alvarez, F. J., Frank, E., & Goulding, M. (2014). V1 and V2b interneurons secure the alternating flexor-extensor motor activity mice require for limbed locomotion. *Neuron*, 82(1), 138–150.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.02.013>

12. Apéndices

12.1 Funciones, pesos sinápticos y parámetros biofísicos

Tabla 2. Variables de activación e inactivación en estado estable y constantes de tiempo de los canales iónicos. Tomados y modificados de Rybak *et al.* (2006a).

Canal iónico	$m_{\infty}(V) [=] mV$ $h_{\infty}(V) [=] mV$	$\tau_m(V) [=] ms$ $\tau_h(V) [=] ms$
Na^+	$m_{\infty Na}(V) = \frac{1}{\left(1 + e^{\frac{-(V+35)}{7.8}}\right)}$ $h_{\infty Na}(V) = \frac{1}{\left(1 + e^{\frac{(V+55)}{7}}\right)}$	$\tau_{mNa} = 0$ $\tau_{hNa}(V) = \frac{30}{\left(e^{\frac{(V+50)}{15}} + e^{\frac{-(V+50)}{16}}\right)}$
NaP^+	$m_{\infty NaP}(V) = \frac{1}{\left(1 + e^{\frac{-(V+47.1)}{3.1}}\right)}$ $h_{\infty NaP}(V) = \frac{1}{\left(1 + e^{\frac{(V+59)}{8}}\right)}$	$\tau_{mNaP} = 0$ $\tau_{hNaP}(V) = \frac{1200}{\cosh\left(\frac{(V+59)}{16}\right)}$
K^+	$m_{\infty K}(V) = \frac{1}{\left(1 + e^{\frac{-(V+28)}{15}}\right)}$ $h_K = 1$	$\tau_{mK}(V) = \frac{7}{\left(e^{\frac{(V+40)}{40}} + e^{\frac{-(V+40)}{50}}\right)}$
Ca_N^{2+}	$m_{\infty CaN}(V) = \frac{1}{\left(1 + e^{\frac{-(V+30)}{5}}\right)}$ $h_{\infty CaN}(V) = \frac{1}{\left(1 + e^{\frac{(V+45)}{5}}\right)}$	$\tau_{mCaN} = 4$ $\tau_{hCaN} = 40$
Ca_L^{2+}	$m_{\infty CaL}(V) = \frac{1}{\left(1 + e^{\frac{-(V+40)}{7}}\right)}$ $h_{CaL} = 1$	$\tau_{mCaL} = 40$
K_{Ca}^+	$m_{K,ca}(Ca) = \frac{Ca}{Ca + K_d}$	-

Tabla 3. Tabla de pesos sinápticos de la red.

Población objetivo	Conexiones y pesos sinápticos	Peso aferente (W_{dmi})	Estimulación aferente (d_{mi})
RG-E	RG-E (+0.0125); RG-F (+0.0125); E-3 (+0.02) Inrg-E (-0.115)	MRL (+1.0)	**
RG-F	RG-F (+0.0125); RG-E (+0.0125) Inrg-E (-0.115)	MLR (+1.0)	**
PF-E	RG-E (+0.0075) Inrg-E (-0.05); Inpf-E (-0.35)	MLR (+1.0)	MLR (+0.5)
PF-F	RG-F (+0.0075); E3 (+0.05) Inrg-F (-0.05); Inpf-F (-0.35);	MLR (+1.0)	MLR (+0.5)
Inrg-E	RG-F (+0.45); E3 (+0.4)	-	-
Inrg-F	RG-E (+0.45)	-	-
Inpf-E	PF-F (+0.45)	-	-
Inpf-F	PF-E (+0.45)	-	-
Ia-E	PF-E (+0.4) Ia-F (-0.1); Rsh-E (-0.1)	-	-
Ia-F	PF-F (+0.4) Ia-E (-0.1); Rsh-F (-0.1)	-	-
Rsh-E	Mn-GS (+0.25) Rsh-F (-0.1)	-	-
Rsh-F	Mn-TA (+0.25) Rsh-E (-0.1)	-	-
Mn-TA	PF-F (+1.5); E-2(+0.2); Ia-E (-0.5); Rsh-F (-0.25); In-1 (-2.5)	-	-
Mn-GS	PF-E (+0.7); Insp2(+2.5); Ia-F (-0.8); Rsh-E (-0.25); In-1 (-0.1)	-	-
E-1	-	SP (+1.0)	SP (+0.2)
E-2	Insp1 (+0.015)	SP (+1.0)	SP (+1.8)
I-1	Insp2 (+0.8)	-	-
I-2	Insp2 (+0.4) Inpf-E (-0.4)	-	-
E-3	-	SP (+1.0)	SP (+2.0)

** Los valores se especifican dentro de las leyendas en las figuras de los resultados.

Tabla 4. Potenciales de inversión, y parámetros sinápticos.

$E_{Na} = +55 mV$	$E_{SynE} = -10mV$	$\bar{g}_E = 0.05 mS cm^{-2}$
$E_K = -80mV$	$E_{SynI} = -70mV$	$\bar{g}_I = 0.05 mS cm^{-2}$
$E_{Ca} = +80mV$	$\tau_{SynE} = 5 ms$	$\bar{g}_{Ed} = 0.05 mS cm^{-2}$
$C = 1.0 \mu F cm^{-2}$	$\tau_{SynI} = 5ms$	$\bar{g}_{Id} = 0.05 mS cm^{-2}$

Tabla 5. Parámetros para neuronas de doble compartimento.

$g_C = 0.1 mS cm^{-2}$ $p = 0.1$	$k_{Ca} = 2 ms^{-1}$ $K_d = 0.2 \mu M$	$\alpha = 2 mol C^{-1} cm^{-1}$ $f = 0.01$
-------------------------------------	---	---

Tabla 6. Conductancias iónicas por canal y estirpe neuronal.

Conductancia iónica	Motoneuronas	RG	PF	Inrg, Inpf, Ia, Rsh, E1, E2, I1, I2	E3
	$[mS\ cm^{-2}]$	$[mS\ cm^{-2}]$	$[mS\ cm^{-2}]$	$[mS\ cm^{-2}]$	$[mS\ cm^{-2}]$
$\overline{g_{Na(S)}}$	120	30	30	120	120
$\overline{g_{K(S)}}$	100	1.2	1.2	100	100
$\overline{g_{L(S)}}$	0.51	0.1	0.1	0.51	0.51
$\overline{g_{K,Ca(S)}}$	1.1	-	-	-	5
$\overline{g_{CaN(S)}}$	14	-	-	-	14
$\overline{g_{NaP(S)}}$	-	0.2	0.1	-	-
$\overline{g_{NaP(D)}}$	0.1	-	-	-	0.1
$\overline{g_{CaN(D)}}$	0.3	-	-	-	0.3
$\overline{g_{CaL(D)}}$	0.33	-	-	-	0.5
$\overline{g_{K,Ca(D)}}$	1.1	-	-	-	3.41
$\overline{g_{L(D)}}$	0.51	-	-	-	0.51

Tabla 7. Potenciales de fuga por compartimento.

Población neuronal	$E_{L(S)} [mV]$	$E_{L(D)} [mV]$
Motoneuronas	-65 ± 6.5	-65 ± 3.25
RG	-64 ± 0.64	-
PF	-64 ± 0.64	-
Inrg	-57.5 ± 2.875	-
Inpf	-64 ± 3.2	-
Ia, Rsh	-64 ± 3.2	-
E1	-57.87 ± 0.02	-
E2	-58 ± 0.04	-
I1	-62 ± 0.5	-
I2	-63 ± 3.2	-
E3	-65 ± 0.2	-64.5 ± 0.1

12.2 Diagramas de flujo de programa

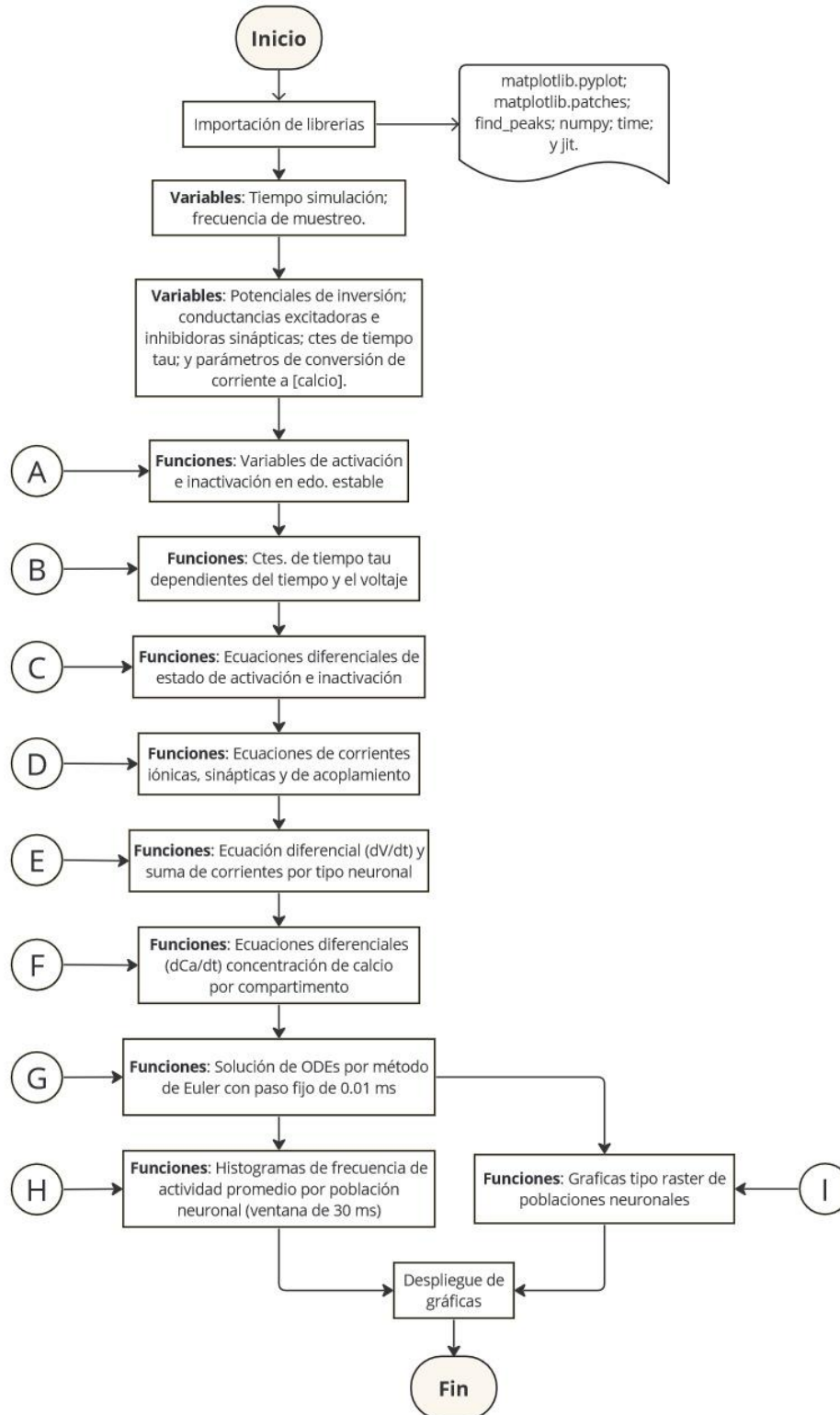


Figura 25. Diagrama de bloques general de programa que simula un CPG de dos niveles

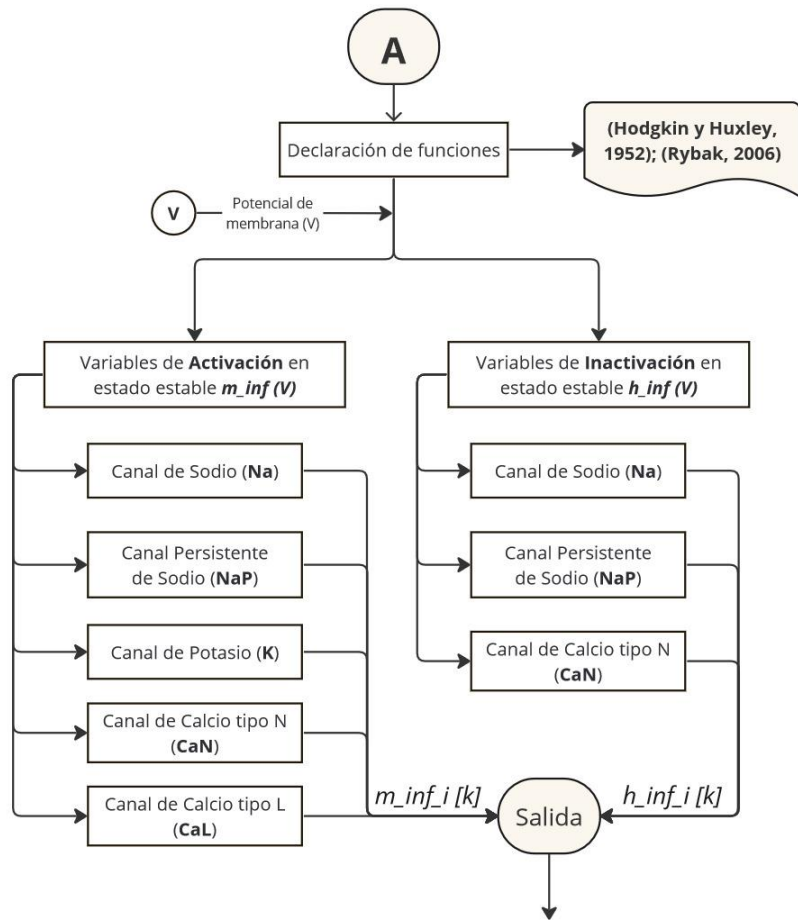


Figura 26. Diagrama de declaración de funciones

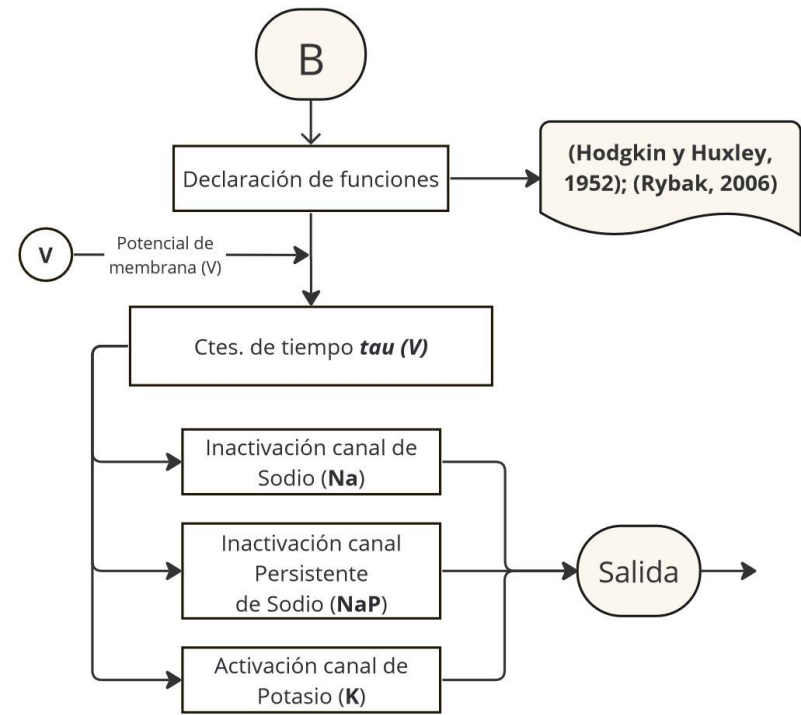


Figura 27. Diagrama de constantes de tiempo dependientes de voltaje

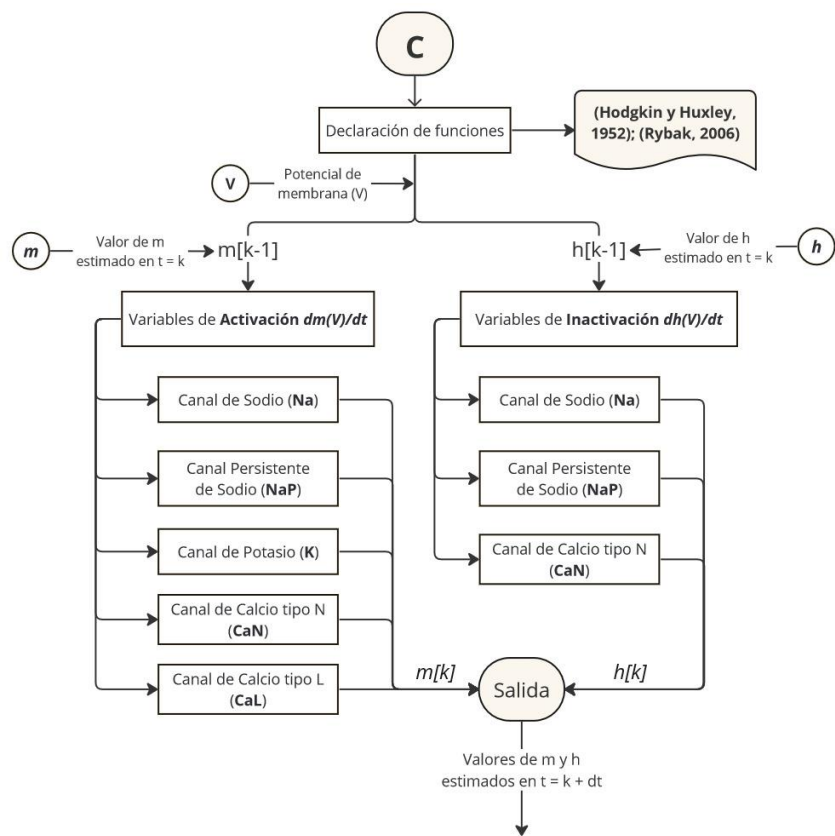


Figura 28. Cambios en las variables de activación e inactivación

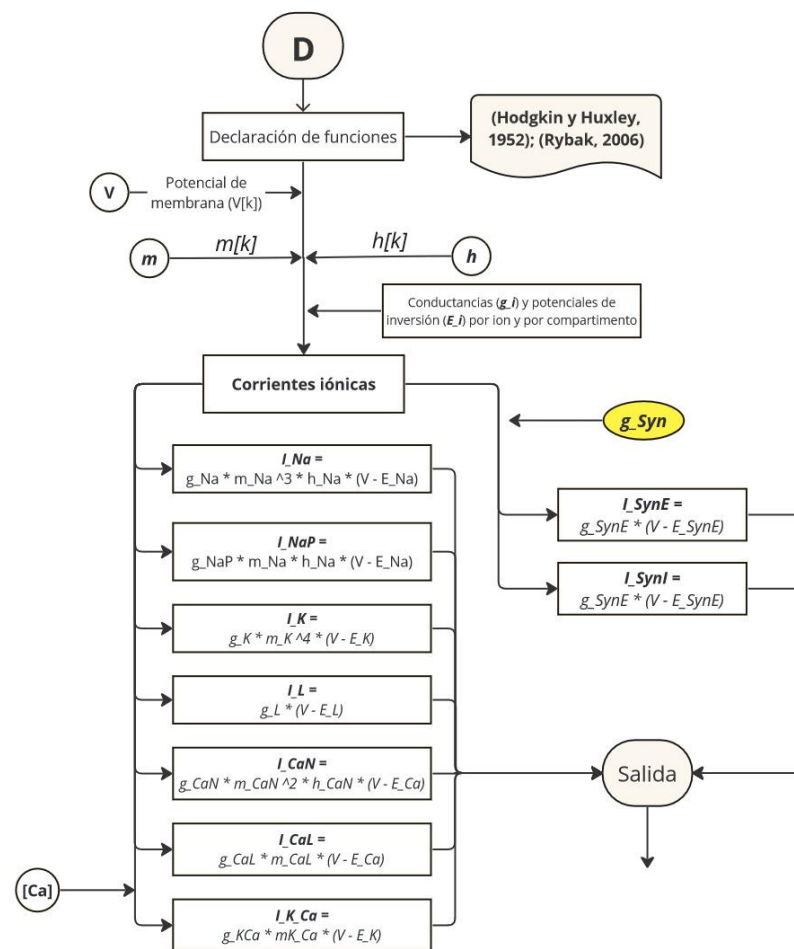


Figura 29. Declaración de funciones que estiman las corrientes iónicas.

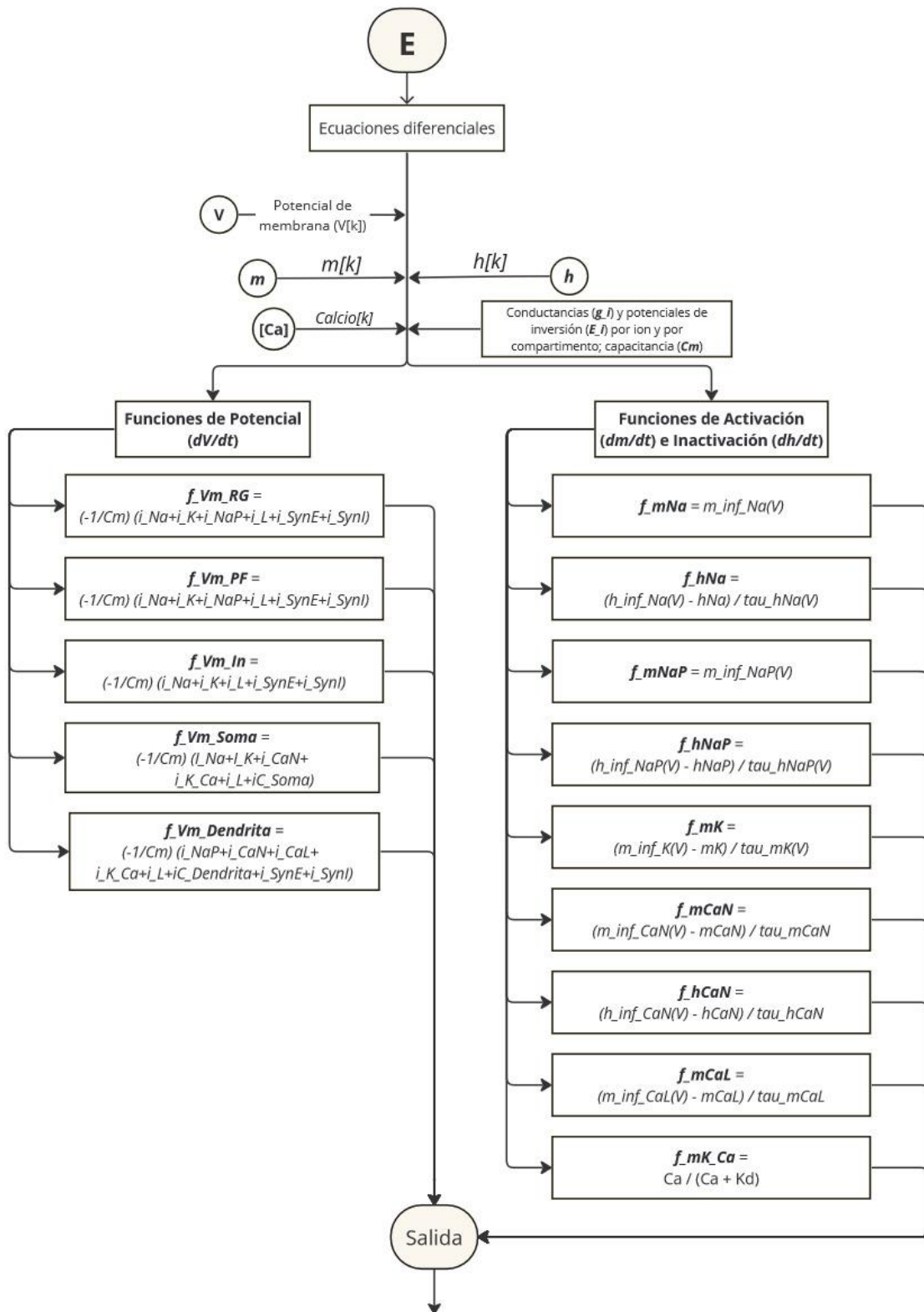


Figura 30. Funciones que iteran para estimar la solución de las ecuaciones diferenciales.

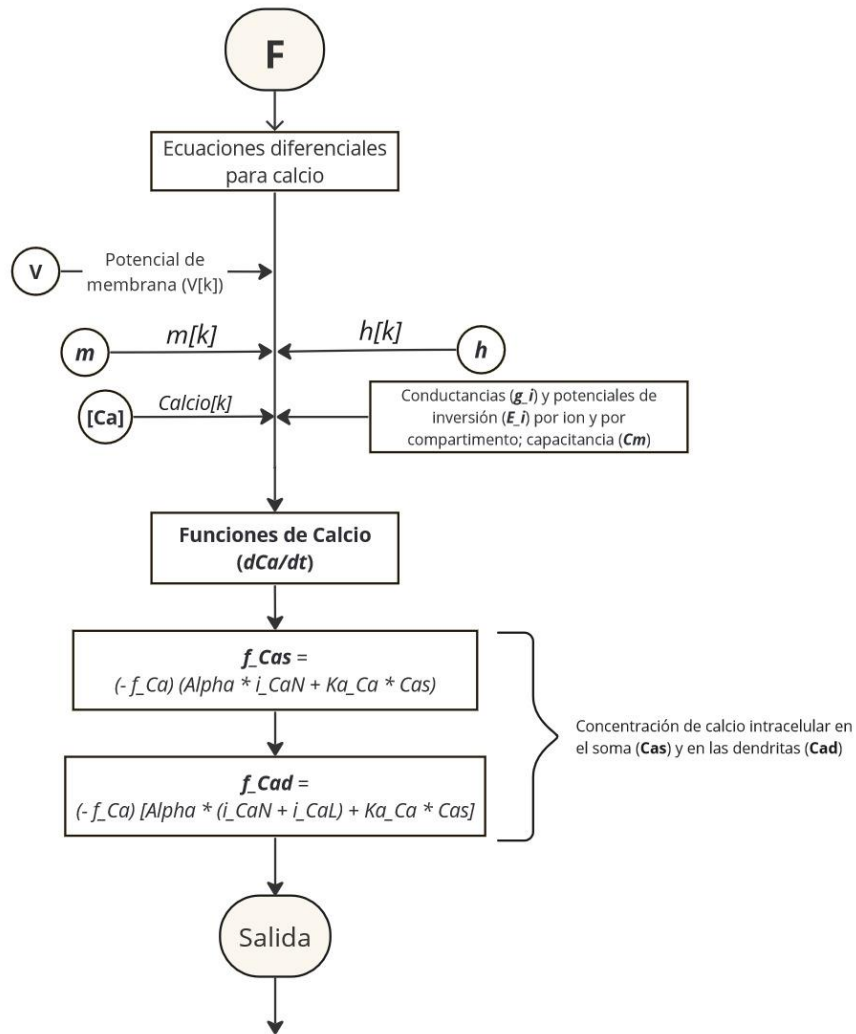


Figura 31. Ecuaciones diferenciales que simulan la dinámica del calcio intracelular.

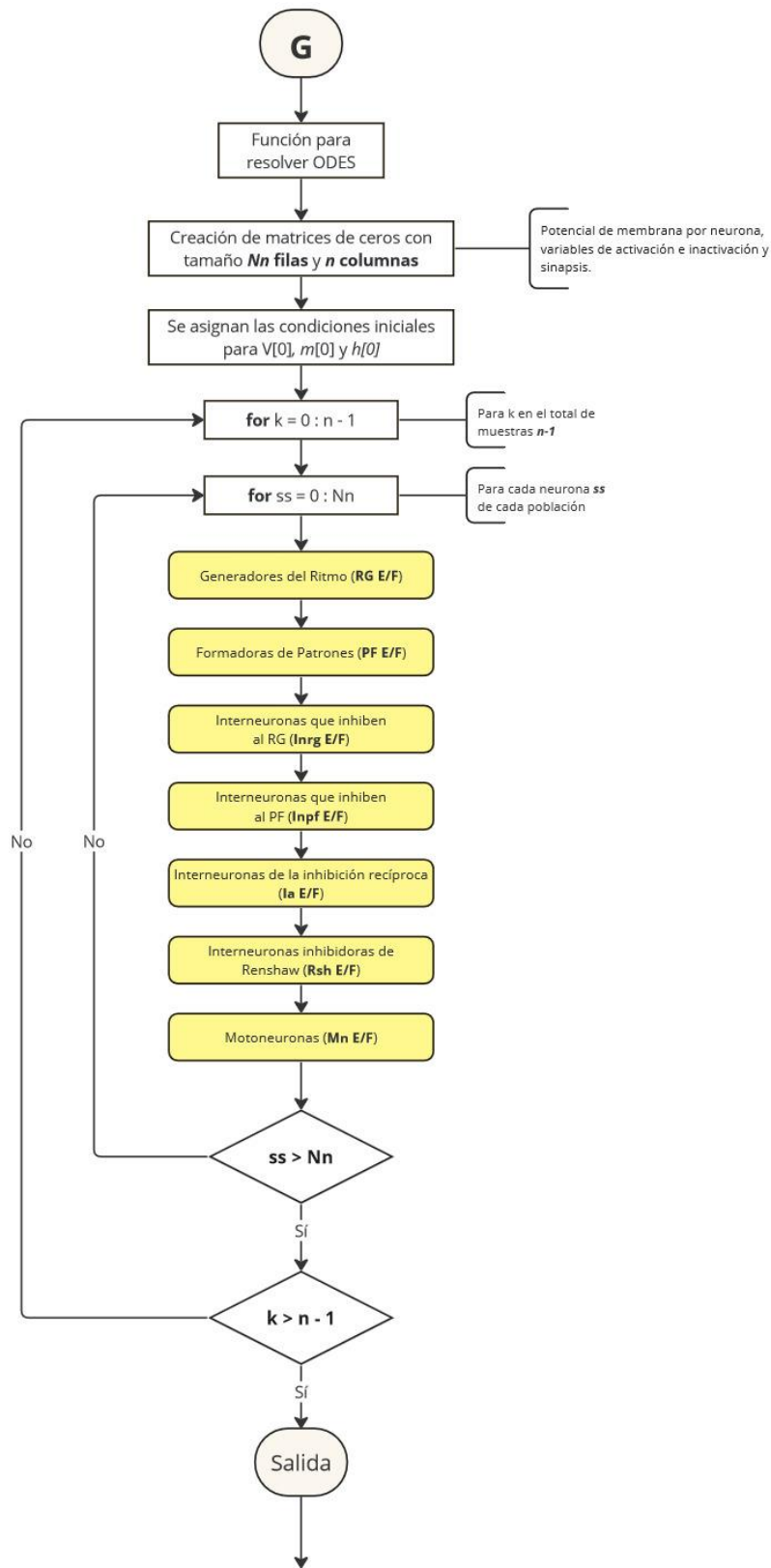


Figura 32. Secuencia de resolución de sistema de ecuaciones para conocer el potencial de membrana de 20 neuronas por población.

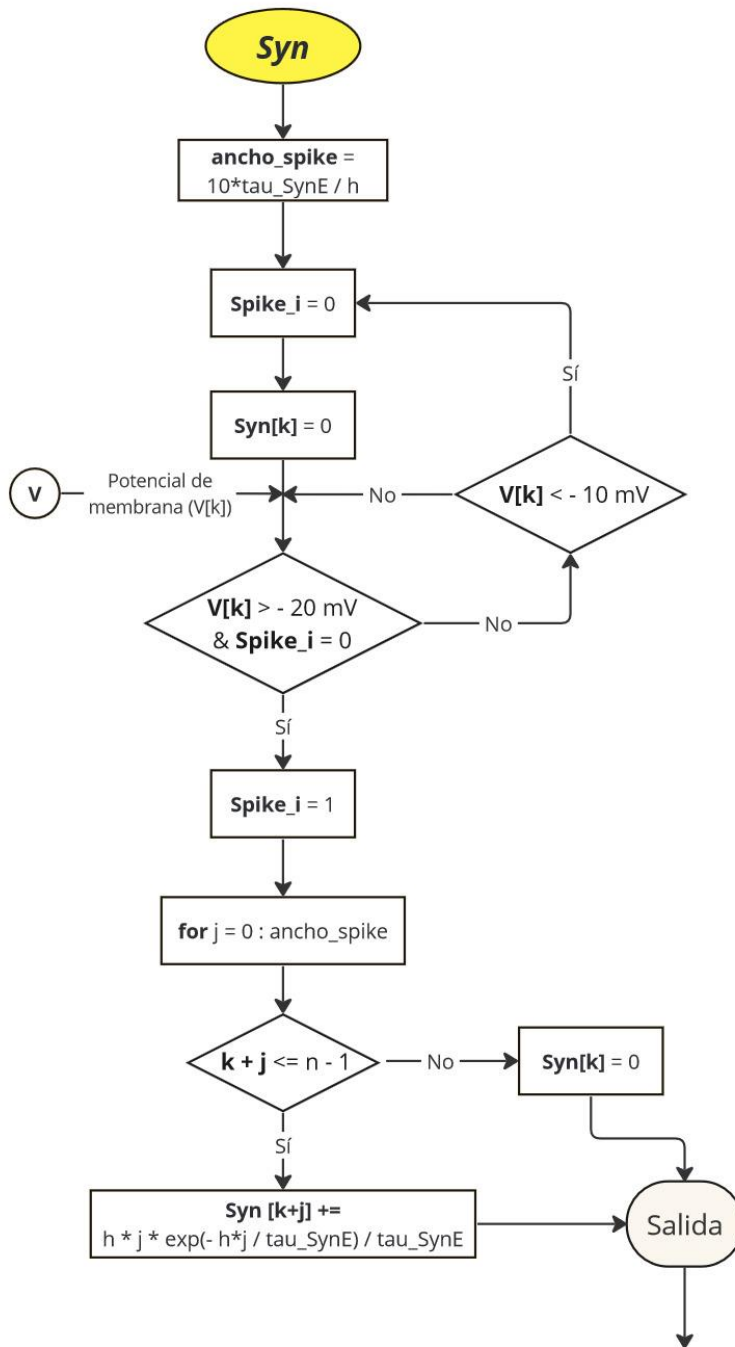


Figura 33. Función para obtener la transmisión sináptica entre neuronas que se encuentran haciendo conexión.

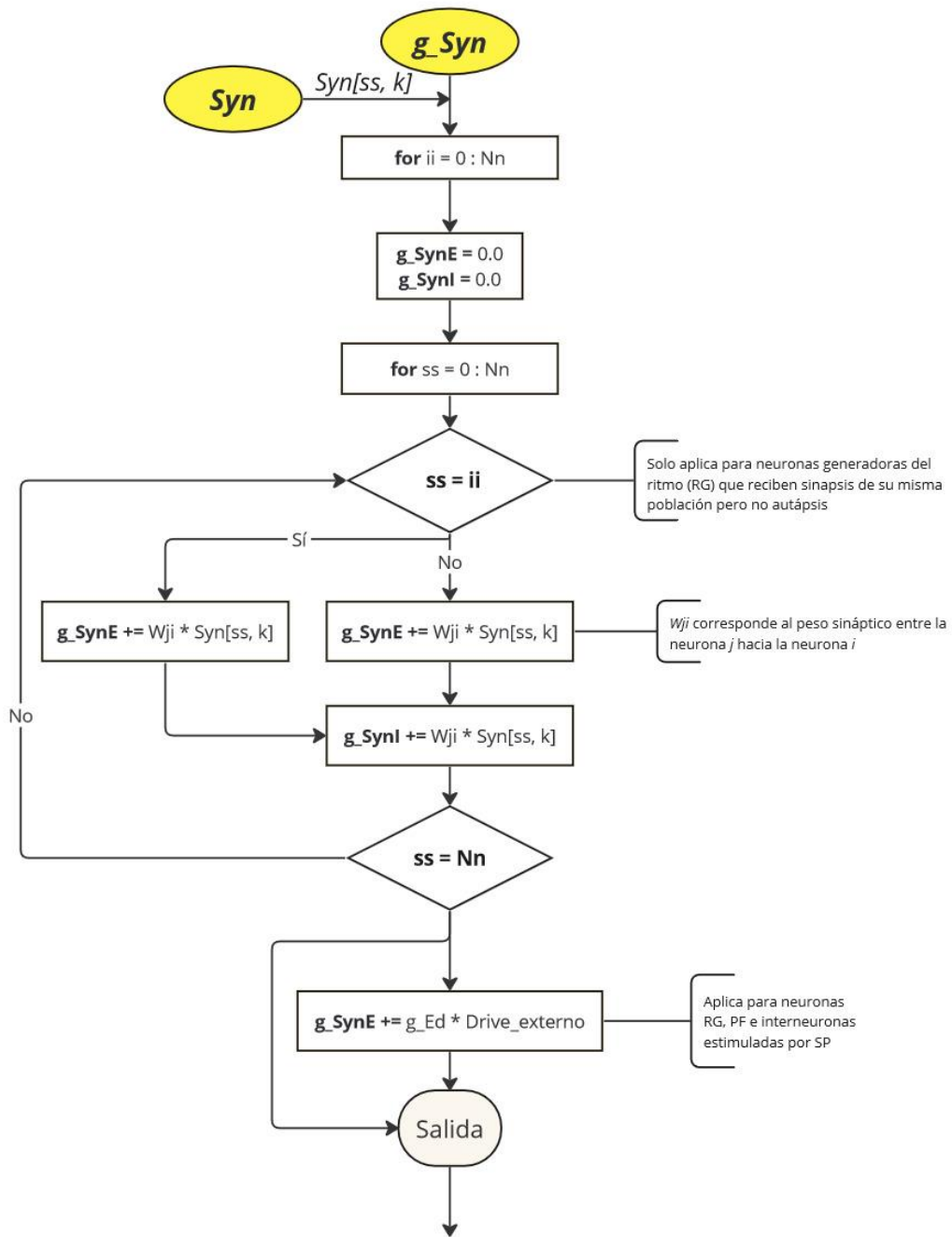


Figura 34. Función que calcula la conductancia sináptica recibida, ya sea excitadora o inhibitora, por otras interneurona o por una fuente externa (MLR, SP).

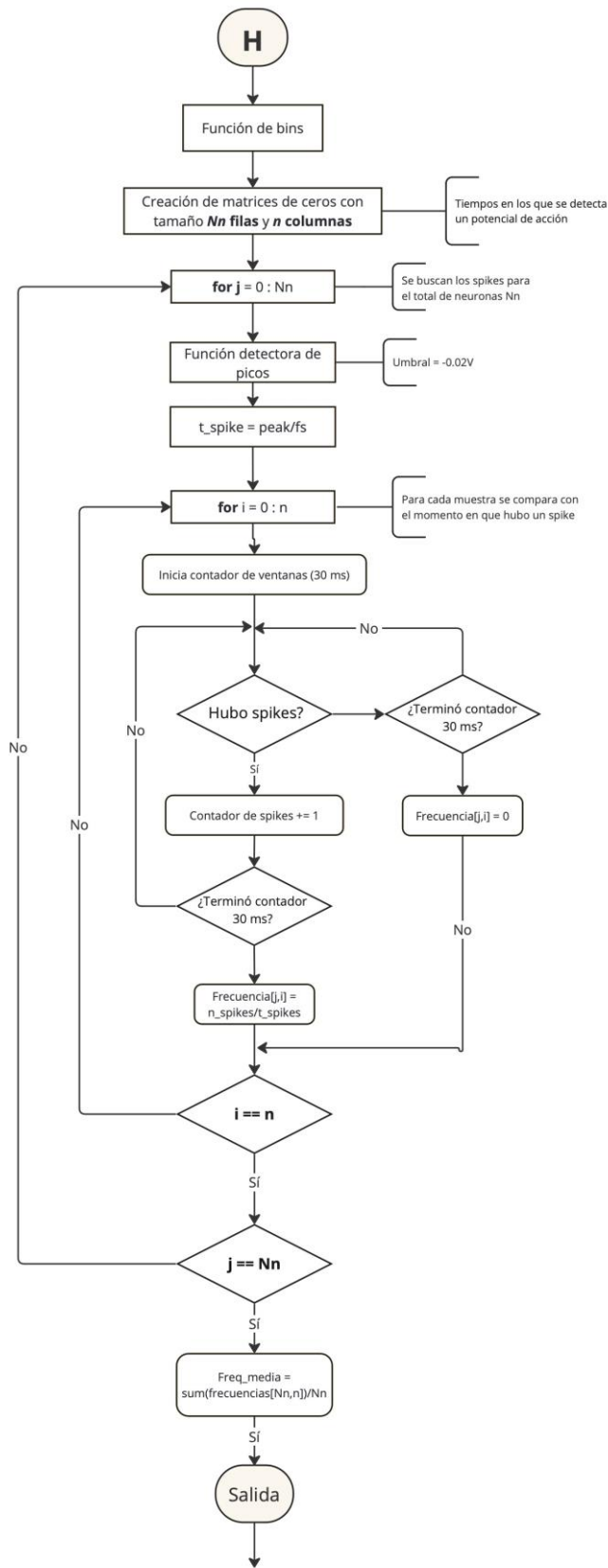


Figura 35. Función que grafica histogramas de frecuencia de actividad promedio por cada población neuronal