

VNiVERSIDAD D SALAMANCA



Facultad de Medicina – Grado en Medicina

Trabajo de Fin de Grado

NÚCLEO LATERAL DEL CUERPO TRAPEZOIDE: CITOARQUITECTURA Y PROYECCIÓN AL NÚCLEO COCLEAR DORSAL

**Lateral nucleus of the trapezoid body: cytoarchitecture and
projection to the dorsal cochlear nucleus**

Autor: Jaime González de la Torre

Tutor: Enrique Saldaña Fernández

Salamanca, 2025

A la memoria de mi abuela Carmina

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi tutor, Enrique Saldaña, por su generosidad al compartir conmigo los encantos de la investigación básica. Sus enseñanzas han sido para mí una fuente de motivación y un ejemplo de rigor científico.

Agradezco también a Mario Gómez Martínez y Héctor Rincón Iglesias su paciencia y dedicación acompañándome en el laboratorio. Su ayuda ha sido crucial para la realización de este trabajo.

ÍNDICE

1. RESUMEN	6
2. INTRODUCCIÓN	8
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	9
4. MATERIAL Y MÉTODOS	10
4.1 Diseño experimental	10
4.2 Animales experimentales	11
4.3 Tinción histológica con el método de Giemsa	12
4.4 Trazado de vías nerviosas con BDA	12
4.5 Análisis de las secciones y elaboración de imágenes	13
5. RESULTADOS	14
5.1 Posición, relaciones anatómicas y citoarquitectura del núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT)	14
5.2 Conexiones del NLCT	16
5.2.1 Casos con inyección de BDA en el NLCT	16
5.2.2 Casos con inyección de BDA en el núcleo coclear dorsal (NCD)	18
6. DISCUSIÓN	21
6.1 Consideraciones técnicas	21
6.2 Citoarquitectura del núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT)	22
6.3 Conexiones del NLCT	23
6.4 Consideraciones funcionales	24
7. CONCLUSIONES	26
8. BIBLIOGRAFÍA	27

ABREVIATURAS

A.N	Apertura numérica
BDA	Dextrano biotinado (<i>biotynilated dextran amine</i>)
CCF	Capa de las células fusiformes del núcleo coclear dorsal
CDM	Cuña dorsomedial del complejo olivar superior
CM	Capa molecular del núcleo coclear dorsal
COS	Complejo olivar superior
CP	Capa profunda del núcleo coclear dorsal
CT	Cuerpo trapezoide
DAB	Diaminobencidina
NCD	Núcleo coclear dorsal
NCV	Núcleo coclear ventral
NLCT	Núcleo lateral del cuerpo trapezoide
NMCT	Núcleo medial del cuerpo trapezoide
NPD	Núcleo periolivar dorsal
NPS	Núcleo parolivar superior
NVCT	Núcleo ventral del cuerpo trapezoide
OSL	Oliva superior medial
OSM	Oliva superior lateral

1. RESUMEN

Los núcleos cocleares son la primera estación de relevo de la vía auditiva. Entre otras funciones, el núcleo coclear dorsal (NCD) integra información sensorial acústica y táctil gracias a su estructura estratificada: la información auditiva llega a las capas profundas, mientras que la táctil a la capa superficial. En este trabajo hemos caracterizado la proyección que las capas profundas del NCD de la rata reciben del núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT), una agrupación neuronal del complejo olivar superior. Para ello, hemos realizado dos tipos de experimentos de trazado de vías nerviosas. Por una parte, inyectamos el trazador bidireccional dextrano biotinado (BDA) en el NLCT para analizar la trayectoria, distribución y morfología de los axones que inervan al NCD. Por otra, inyectamos BDA en el NCD para analizar la morfología y distribución de las neuronas del NLCT que generan esta proyección. Para interpretar los resultados de estos experimentos fue necesario describir primer la citoarquitectura del NLCT de la rata.

El NLCT es un núcleo alargado en sentido rostrocaudal y compuesto por unas neuronas relativamente grandes, de posición dorsal, y otras pequeñas, más ventrales. Los axones del NLCT viajan por el cuerpo trapezoide y forman un plexo terminal denso y difuso en las capas profundas del NCD ipsilateral. Las neuronas responsables de esta conexión son relativamente grandes y multipolares, y se reparten por toda la extensión rostrocaudal del NLCT. Además, el NLCT posee un sistema de conexiones intrínsecas en el que pueden participar los dos tipos de neuronas.

El NLCT es el núcleo más bajo de la vía auditiva que envía una proyección descendente al NCD. Esta proyección, que es presumiblemente excitadora, podría participar en un rápido circuito de retroalimentación útil para suprimir los ecos.

1. ABSTRACT

The cochlear nuclei are the first relay station of the auditory pathway. Among other functions, the dorsal cochlear nucleus (DCN) integrates acoustic and tactile sensory information thanks to its stratified structure: auditory information reaches the deep layers, whereas tactile information reaches the superficial layer. In this work we have characterised the projection that the deep layers of the rat DCN receive from the lateral nucleus of the trapezoid body (LNTB), a cell group of the superior olivary complex. To this end, we performed two types of tract-tracing experiments. On the one hand, we injected the bidirectional tracer biotinylated dextran amine (BDA) into the LNTB to analyse the trajectory, distribution and morphology of the axons innervating the DCN. On the other hand, we injected BDA into the DCN to analyse the morphology and distribution of the LNTB neurons that generate this projection. To interpret the results of these experiments, we first described the cytoarchitecture of the rat LNTB.

The LNTB is a rostrocaudally elongated nucleus composed of relatively large, dorsally located neurons, and small, more ventral neurons. Axons from the LNTB travel through the trapezoid body and form a dense and diffuse terminal plexus in the deep layers of the ipsilateral DCN. The neurons responsible for this connection are relatively large and multipolar, and are distributed throughout the rostrocaudal extent of the LNTB. In addition, the LNTB possesses a system of intrinsic connections in which both neuron types may be involved.

The LNTB is the lowest nucleus of the auditory pathway that sends a descending projection to the DCN. This projection, which is presumably excitatory, could be involved in a fast feedback loop useful for echo suppression.

2. INTRODUCCIÓN

Para lidiar con entornos sensoriales complejos, los animales hemos desarrollado la capacidad de integrar información de distintas modalidades sensoriales. Un buen ejemplo es la integración de la información auditiva con la somatosensorial, dado que el contenido de los estímulos acústicos lo interpretamos en función de la posición de la cabeza. Esta integración tiene lugar ya desde la primera estación de la vía auditiva ascendente, el núcleo coclear dorsal (NCD)¹. El NCD posee una estructura claramente estratificada en tres capas: la capa superficial o molecular, la capa de las células fusiformes y la capa profunda. La información acústica ascendente llega por el nervio coclear a la capa profunda, donde inerva a las dendritas basales de las neuronas fusiformes. A esta misma capa llegan proyecciones descendentes de centros auditivos superiores, como el colículo inferior^{2,3,4} y la corteza cerebral auditiva⁵. Por otro lado, la información somatosensorial procedente de distintos centros nerviosos, como los núcleos de la columna dorsal o los núcleos vestibulares, es transmitida a las células grano, cuyas fibras paralelas inervan a las neuronas de la capa superficial y a las dendritas apicales de las neuronas fusiformes, que son las que llevan a cabo la integración (Fig. 1). Así pues, en el NCD convergen la información auditiva, que llega a las capas profundas, y la somatosensorial, que llega a la capa superficial.

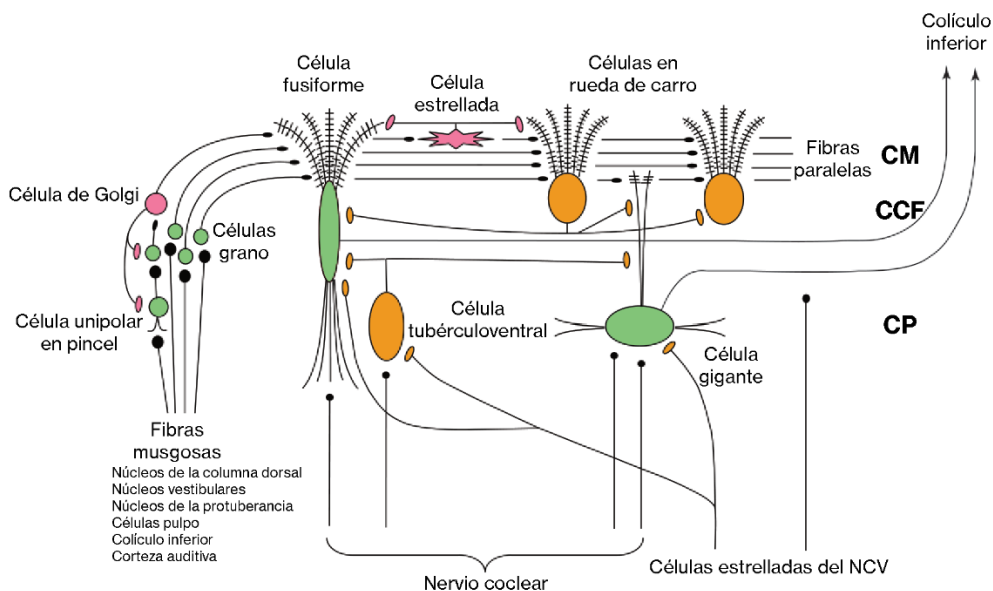


Figura 1. Diagrama de conexiones de las tres capas del núcleo coclear dorsal (NCD): la capa molecular (CM), la capa de las células fusiformes (CCF) y la capa profunda (CP). Las neuronas verdes, rosas y naranjas representan respectivamente neuronas glutamatérgicas, GABAérgicas y glicinérgicas. Adaptado de Oertel y Young (2004)⁶. Otras abreviaturas: NCV, núcleo coclear ventral.

Este elegante modelo de segregación topográfica de impulsos auditivos y somato-sensoriales se vio trastocado por un estudio reciente de Gómez-Martínez et al (2025)⁷, que demostró que el núcleo ventral del cuerpo trapezoide (NVCT), un núcleo auditivo, envía una densa proyección al NCD contralateral que no termina en las capas profundas, sino en la capa superficial. El NVCT es uno de los núcleos del complejo olivar superior (COS), un conjunto de agrupaciones neuronales situado en la parte ventral de la protuberancia (Fig. 2). El COS es la primera estación de la vía auditiva en la que converge la información de los dos oídos.

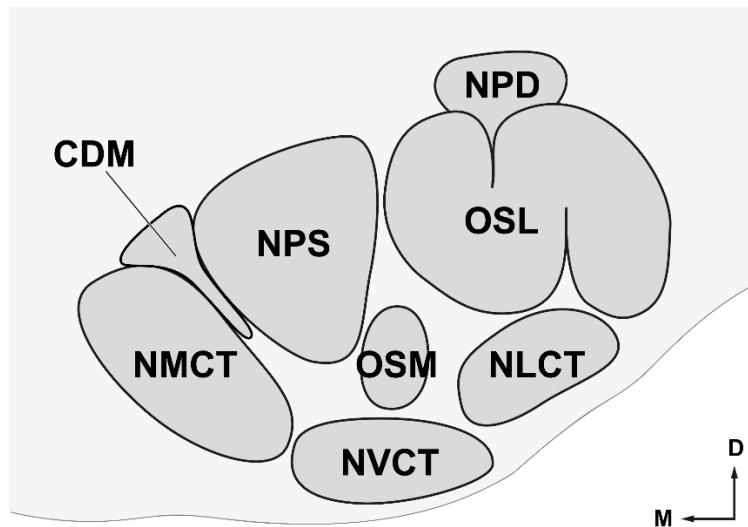


Figura 2. Esquema del complejo olivar superior (COS) de la rata. Abreviaturas: CDM, cuña dorsomedial; NLCT, núcleo lateral del cuerpo trapezoide; NMCT, núcleo medial del cuerpo trapezoide; NP, núcleo periolivar dorsal; NPS, núcleo paraolivar superior; NVCT, núcleo ventral del cuerpo trapezoide; OSL, oliva superior lateral; OSM, oliva superior medial. Basado en Gómez-Martínez et al (2023)⁸

El estudio de Gómez-Martínez et al describió que el NCD es inervado también por otro núcleo del COS, el núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT) de su mismo lado. Esta proyección ya había sido mencionada en estudios anteriores^{9,10,11,12}. Sin embargo, se desconoce qué capas del NCD son el blanco de esta proyección y cuáles son las neuronas que la originan.

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Para comprender cómo el núcleo coclear dorsal (NCD) procesa la información acústica es necesario caracterizar sus aferencias. En este contexto, es especialmente interesante estudiar la proyección del núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT) para averiguar a qué capas del NCD inerva y conocer las neuronas de las que parte.

Nuestro objetivo general es caracterizar la proyección del NLCT al NCD de la rata. Este objetivo se desglosa en dos objetivos específicos: por una parte, describir la trayectoria, la distribución y la morfología de los axones procedentes del NLCT que inervan al NCD; por otra, describir la morfología y la distribución de las neuronas responsables de esta proyección. Para desarrollar este segundo objetivo específico, es necesario conocer primero la citoarquitectura del NLCT de la rata, nunca antes descrita.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Diseño experimental

Para caracterizar la citoarquitectura del núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT) hemos analizado secciones coronales del tronco del encéfalo teñidas con el método de Giemsa. Este procedimiento proporciona una tinción nítida de las neuronas, que permite distinguirlas de las células gliales y las células endoteliales.

Para estudiar las conexiones del NLCT, usamos el trazador neuroanatómico bidireccional dextrano biotinado (BDA, por sus siglas en inglés *biotinylated dextran amine*). El BDA es transportado tanto en sentido anterógrado como en sentido retrógrado. Por ello, cuando se inyecta en un núcleo cerebral, marca anterógradamente los axones de las neuronas de ese núcleo y retrógradamente las neuronas que inervan a ese núcleo (Fig. 3).

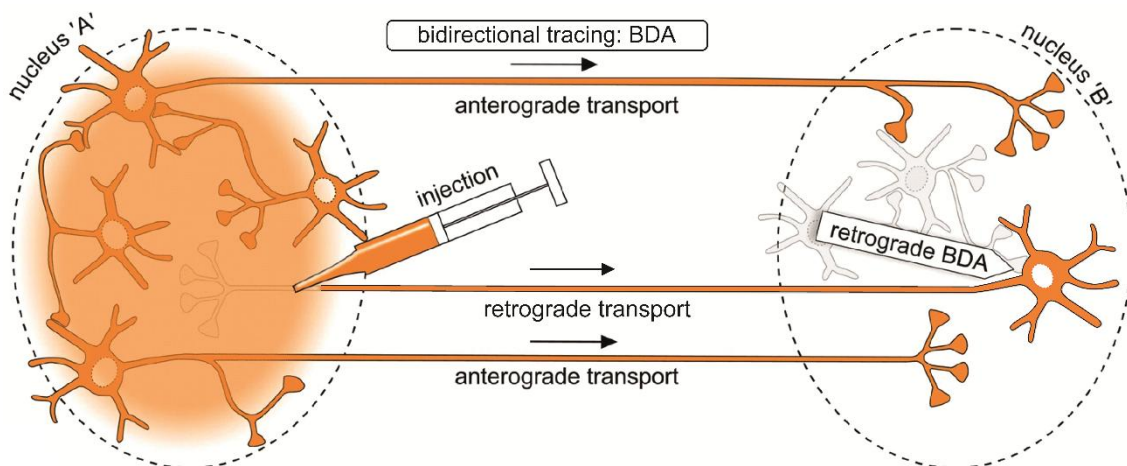


Figura 3. Transporte bidireccional (anterógrado y retrógrado) del dextrano biotinado (BDA). Adaptado de Lanciego y Wouterlood (2020)¹³.

Para estudiar la proyección del NLCT al núcleo coclear dorsal (NCD), inyectamos BDA en el NLCT y analizamos la trayectoria, distribución y morfología de los axones que inervan al NCD (Fig. 4A).

Para estudiar las neuronas del NLCT que inervan al NCD, inyectamos BDA en el NCD y analizamos el número, distribución y morfología de las neuronas marcadas retrógradamente en el NLCT (Fig. 4B).

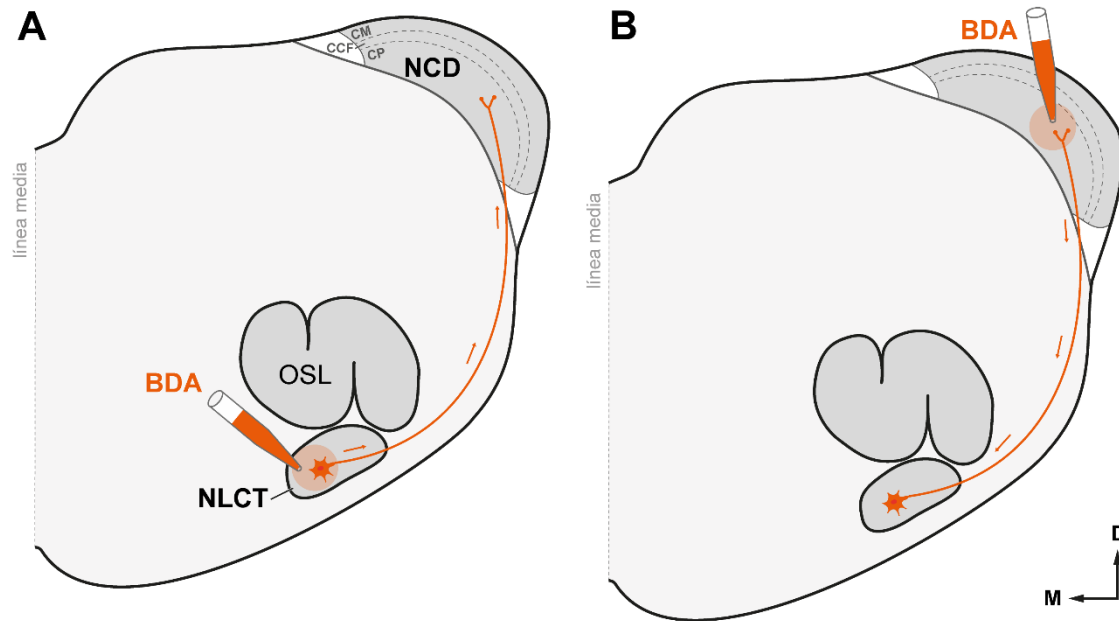


Figura 4. Diseño experimental. **A.** Inyección de dextrano biotinado (BDA) en el núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT); **B.** Inyección de BDA en el núcleo coclear dorsal (NCD). Otras abreviaturas: CCD, capa de las células fusiformes; CM, capa molecular; CP, capa profunda; OSL, oliva superior lateral.

4.2. Animales experimentales

Para este trabajo, hemos analizado once casos del archivo de preparaciones del Laboratorio de Neurohistología del Instituto de Neurociencias de Castilla y León (INCyL). En dos casos, las secciones seriadas del cerebro completo se habían teñido con el método de Giemsa. En otros cuatro casos, se inyectó el trazador BDA en el NLCT y en los cinco restantes, se inyectó el mismo trazador en el NCD. En todos los experimentos se emplearon ratas albinas de la cepa Wistar, todas ellas hembras y de un peso corporal de entre 190 y 210 g. Las preguntas científicas que motivaron estos experimentos fueron muy distintas de las nuestras, por lo que nuestro análisis es totalmente original.

4.3. Tinción histológica con el método de Giemsa

Para obtener el cerebro de la rata, la anestesiámos profundamente con una sobredosis de pentobarbital sódico inyectada intraperitonealmente. A continuación, abrimos la cavidad torácica y, a través de una cánula introducida en el ventrículo izquierdo, perfundimos 200 ml de suero salino para lavar el árbol vascular y después 500 ml de formaldehído al 4 % para fijar el cerebro. Posteriormente disecamos el cerebro y lo crioprotegimos en una solución de sacarosa al 30 % durante 48-72 horas. Seguidamente lo cortamos con un microtomo de congelación para obtener secciones coronales de 40 μm . Por último, teñimos las secciones con el método de Giemsa, siguiendo el protocolo de Íñiguez et al. (1985)¹⁴.

4.4. Trazado de vías nerviosas con BDA

Inyectamos unilateralmente el trazador BDA (PM = 10.000 Da, Molecular Probes, Eugene, Oregon, EEUU, al 10 % en un tampón de fosfato sódico 0,1 M a pH 7,4) en el NLCT o en el NCD. Debido al tamaño submilimétrico de estos núcleos, realizamos la inyección con un micromanipulador estereotáctico y calculamos las coordenadas del punto de inyección con la ayuda de un atlas estereotáctico del cerebro de la rata¹⁵. Previamente anestesiámos a la rata con una mezcla de ketamina (80 mg/kg, Imalgene, Merial Laboratorios, S.A., Barcelona) y de xilazina (6 mg/kg, Rompun, KVP Pharma + Veterinär Produkte GmbH, Kiel, Alemania) administrada por vía intramuscular o intraperitoneal.

Con la cabeza fija en el marco estereotáctico por tres puntos (ambos conductos auditivos externos y el hocico) (Fig. 5), expusimos la superficie dorsal del cráneo y, con una fresa de dentista, realizamos una craneotomía sobre la región cerebral de interés. Introdujimos hasta el núcleo deseado una micropipeta de borosilicato (15-20 μm de diámetro en la punta) cargada con el trazador. Para inyectar iontoforéticamente el trazador, hicimos pasar a través de la pipeta una corriente eléctrica positiva de 5 μA en pulsos de 7 segundos cada 14 segundos, durante 15 minutos.

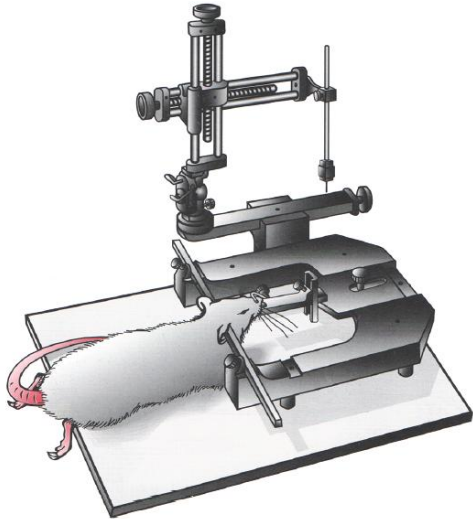


Figura 5. Equipo de estereotaxia (micromanipulador y marco estereotáctico) usado para inyectar el trazador neuroanatómico. Tomado de Gómez-Álvarez (2014)¹⁶.

Tras la operación devolvimos al animal a su jaula y durante los 3 días siguientes le administramos buprenorfina subcutáneamente (0,05 mg/kg, Bupaq, Richter Pharma AG, Wels, Austria) para disminuir el dolor.

Una semana después de la intervención, fijamos el cerebro por perfusión y lo cortamos con el microtomo de congelación como se ha descrito más arriba. Para revelar el trazador, incubamos las secciones primero en un complejo de avidina, biotina y peroxidasa (ABC, Vectastain, Vector Labs; Burlingame, California, EEUU). Después las tratamos con una reacción estándar de peroxidasa usando como cromógeno diaminobencidina (DAB), que proporciona una tinción marrón o, más frecuentemente, usando DAB intensificada con sulfato de níquel y amonio, que genera una tinción negra. Por último, montamos las secciones en portaobjetos y, como referencia citoarquitectónica, contrastamos una de cada cuatro con el método de Nissl (violeta de cresilo al 0,25 %).

4.5. Análisis de las secciones y elaboración de imágenes

Para fotografiar las secciones en alta resolución, empleamos un microscopio Zeiss Axioskop 40 dotado de una cámara digital Zeiss AxioCam MRc 5 y lentes objetivo de 2.5x (A.N.= 0,075), 5x (A.N.= 0,15), 10x (A.N.= 0,30) y 40x (A.N.= 0,75). Para obtener imágenes nítidas de los somas o los axones marcados, tomamos fotografías de la misma sección a distintos planos de foco con una lente objetivo de 40x y las colapsamos en un único plano de máximo contraste mediante el programa Helicon Focus Pro (HeliconSoft, Kharkiv, Ucrania). Para medir las neuronas y calibrar las barras de aumento empleamos el programa ImageJ (v1.54g). Por último, para ajustar distintos parámetros de las imágenes (brillo, contraste, exposición) empleamos Adobe Photoshop (2020, v21.0.0) y para contornear los núcleos y elaborar las planchas Adobe Illustrator (2020, v24.0.1).

5. RESULTADOS

5.1. Posición, relaciones anatómicas y citoarquitectura del núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT)

El NLCT de la rata es un núcleo alargado en sentido rostrocaudal y situado en la parte ventrolateral del complejo olivar superior (COS). Su mitad caudal abraza a la oliva superior lateral (OSL) caudal y ventralmente. En las secciones coronales más caudales, aparece como una estructura redondeada dorsal al núcleo ventral del cuerpo trapezoide (NVCT) (Fig. 6A). En secciones algo más rostrales, en las que se observa la OSL con su forma de “S” tumbada, el NLCT ocupa un área más reducida, ventral a la OSL, lateral al NVCT y adyacente al cuerpo trapezoide (Fig. 6B, C). En secciones de la mitad rostral del COS, en las que no está presente la OSL, el NLCT se alarga en sentido dorsal, y ocupa una posición lateral a la oliva superior medial (OSM) (Fig. 6D, E). La longitud rostrocaudal del NLCT es de unas 1320 micras, que prácticamente coincide con la extensión del COS.

En secciones teñidas con el método de Giemsa, observamos en el NLCT dos tipos neuronales distintos por el tamaño y la forma de su soma. El soma de las del primer tipo posee un diámetro máximo medio de $21,9 \pm 3,4 \mu\text{m}$ ($N = 119$) y una forma variable, desde células fusiformes a otras claramente poligonales, que podrían emitir cuatro o cinco dendritas (Fig. 6F, puntas de flecha magentas). El soma de las del segundo tipo mide $16,3 \pm 2,8 \mu\text{m}$ de diámetro máximo ($N = 124$), y presenta un contorno redondeado u ovalado, que sugiere que poseen pocas dendritas (Fig. 6F, puntas de flecha amarillas). Por simplicidad, en lo sucesivo vamos a referirnos a estos dos tipos como *neuronas grandes* y *neuronas pequeñas*.

Las neuronas grandes tienen un citoplasma abundante que se tiñe intensamente. El núcleo, relativamente grande, apenas está teñido, pero contiene un nucleolo bien visible. Las neuronas pequeñas también se tiñen intensamente y su núcleo es poco visible. Generalmente las neuronas grandes se sitúan en la parte dorsal del núcleo y las pequeñas en la parte ventral, adyacentes al cuerpo trapezoide o incluso entre las fibras de este. Estas últimas presentan el soma alargado lateromedialmente, paralelo a las fibras (Fig. 6F, puntas de flecha amarillas pequeñas).

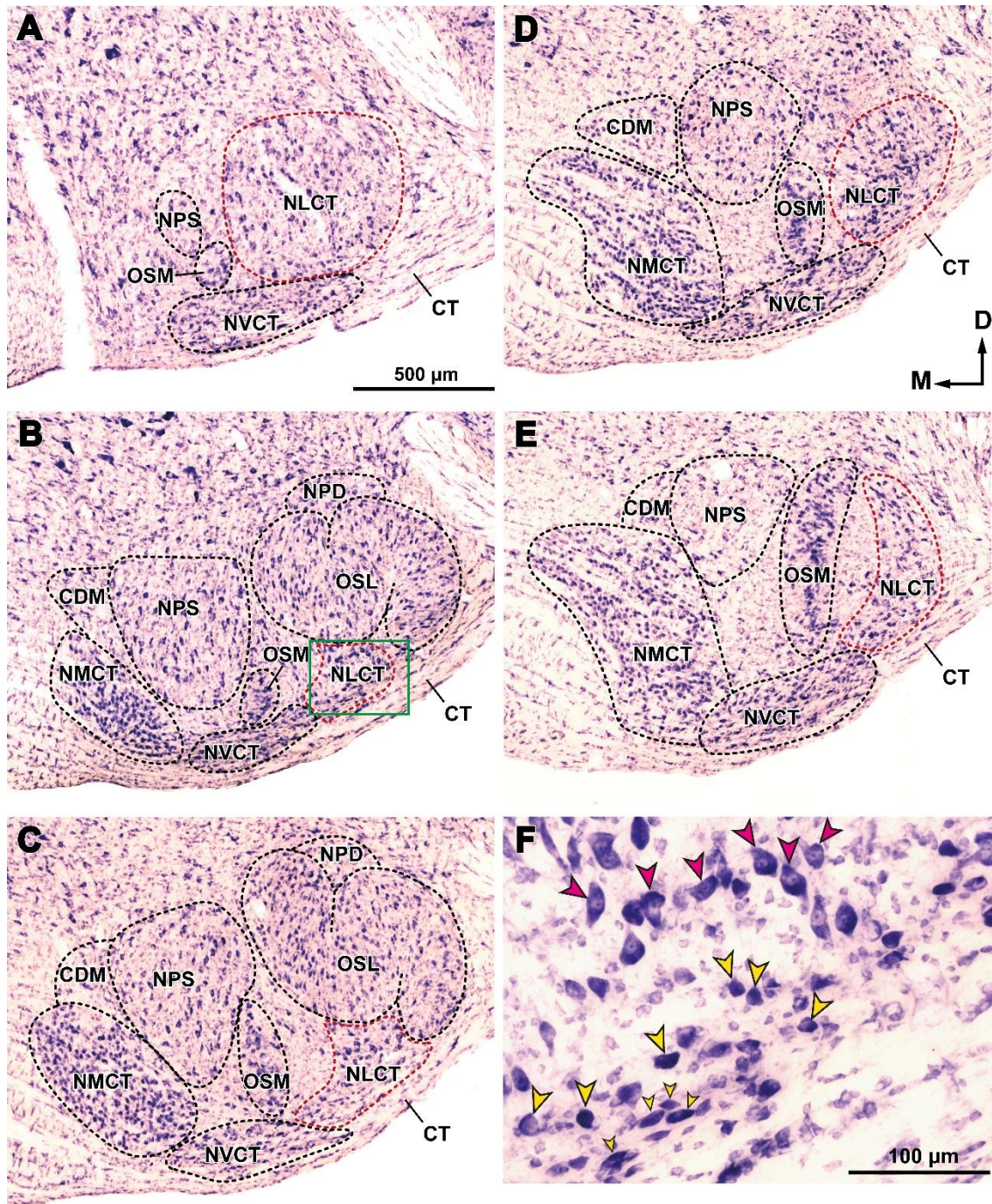


Figura 6. Posición, relaciones anatómicas y citoarquitectura del NLCT. Microfotografías de secciones coronales del complejo olivar superior (COS) de la rata teñidas con el método de Giemsa. A-E. Imágenes panorámicas de cinco niveles del COS ordenados de caudal a rostral y separados por intervalos regulares de 200 μ m. El NLCT se ha resaltado en rojo. F. Detalle de las neuronas del NLCT. Esta fotografía muestra a mayor aumento el área de B delimitada por el rectángulo verde. Puntas de flecha magentas, neuronas grandes; puntas de flecha amarillas, neuronas pequeñas; puntas de flecha amarillas pequeñas, neuronas paralelas al cuerpo trapezoide. La barra de calibración de A sirve también para B-E. Otras abreviaturas: CDM, cuña dorsomedial del complejo olivar superior; CT, cuerpo trapezoide; NMCT, núcleo medial del cuerpo trapezoide; NPD, núcleo periolivar dorsal; NPS, núcleo parolivar superior; NVCT, núcleo ventral del cuerpo trapezoide; OSL, oliva superior lateral; OSM, oliva superior medial.

5.2. Conexiones del NLCT

5.2.1. Casos con inyección de BDA en el NLCT

De los cuatro casos con inyección de BDA en el NLCT analizados, en dos de ellos (NLCT1 y NLCT2) la inyección afectó al tercio caudal del NLCT, ventral a la OSL (Fig. 7A). En los otros dos (NLCT3 y NLCT4) la inyección afectó a una región más rostral del núcleo, situada lateral a la oliva superior medial (OSM) (Fig. 7B). La zona de inyección del caso NLCT4 afectó ligeramente a la parte lateral de la OSM.

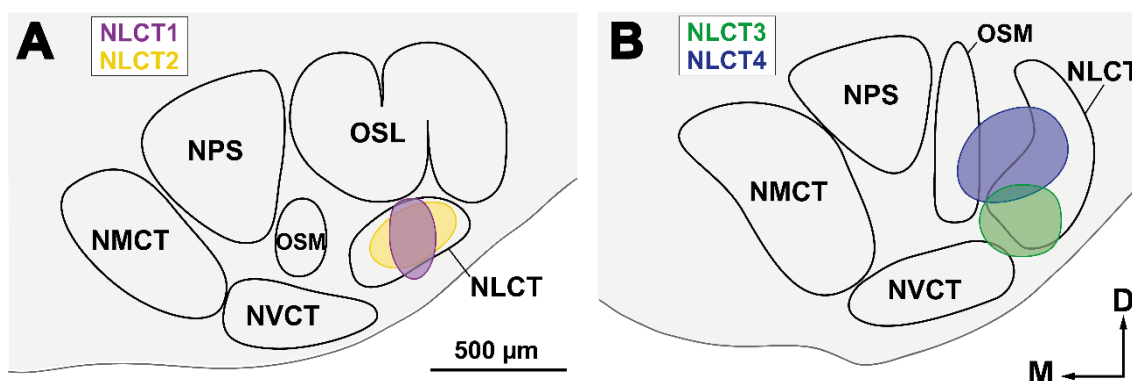


Figura 7. Esquema de las zonas de inyección en el núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT). Otras abreviaturas: ver Figura 2.

En todos los casos, encontramos abundantes neuronas globulares marcadas retrógradamente en el núcleo coclear ventral ipsilateral (no ilustrado). Esta observación confirma que nuestras inyecciones afectaron al NLCT, pues las neuronas globulares son su principal aferencia ascendente¹⁷. También hallamos axones marcados anterógradamente en los núcleos que se sabe que son inervados por el NLCT, incluidos el núcleo paraolivar superior ipsilateral, los núcleos del lemnisco lateral y el colículo inferior de ambos lados, y el cuerpo geniculado medial del tálamo contralateral (no ilustrado). Estas observaciones confirman estudios anteriores de conexiones del NLCT^{18,19,20,21,22,23} y no las tendremos más en cuenta en este trabajo.

Desde la zona de inyección (Fig. 8A, B), los axones marcados se dirigen ventrolateralmente para incorporarse al cuerpo trapezoide, por donde viajan hasta los núcleos cocleares de su mismo lado. Al llegar al núcleo coclear ventral (NCV), discurren en sentido dorsal entre este y fascículo espinal del nervio trigémino para alcanzar la región más profunda del núcleo coclear dorsal (NCD). Dentro del NCD, se incurvan hacia la superficie y se distribuyen uniformemente por las capas profundas del núcleo: la capa profunda propiamente dicha y la capa de las células fusiformes (Fig. 8C, D). En la mayor

parte de las secciones, la capa molecular aparece desprovista de axones marcados (Fig. 8D). Los axones terminales son de calibre mediano, se ramifican pocas veces y poseen un número modesto de especializaciones sinápticas de paso y terminales.

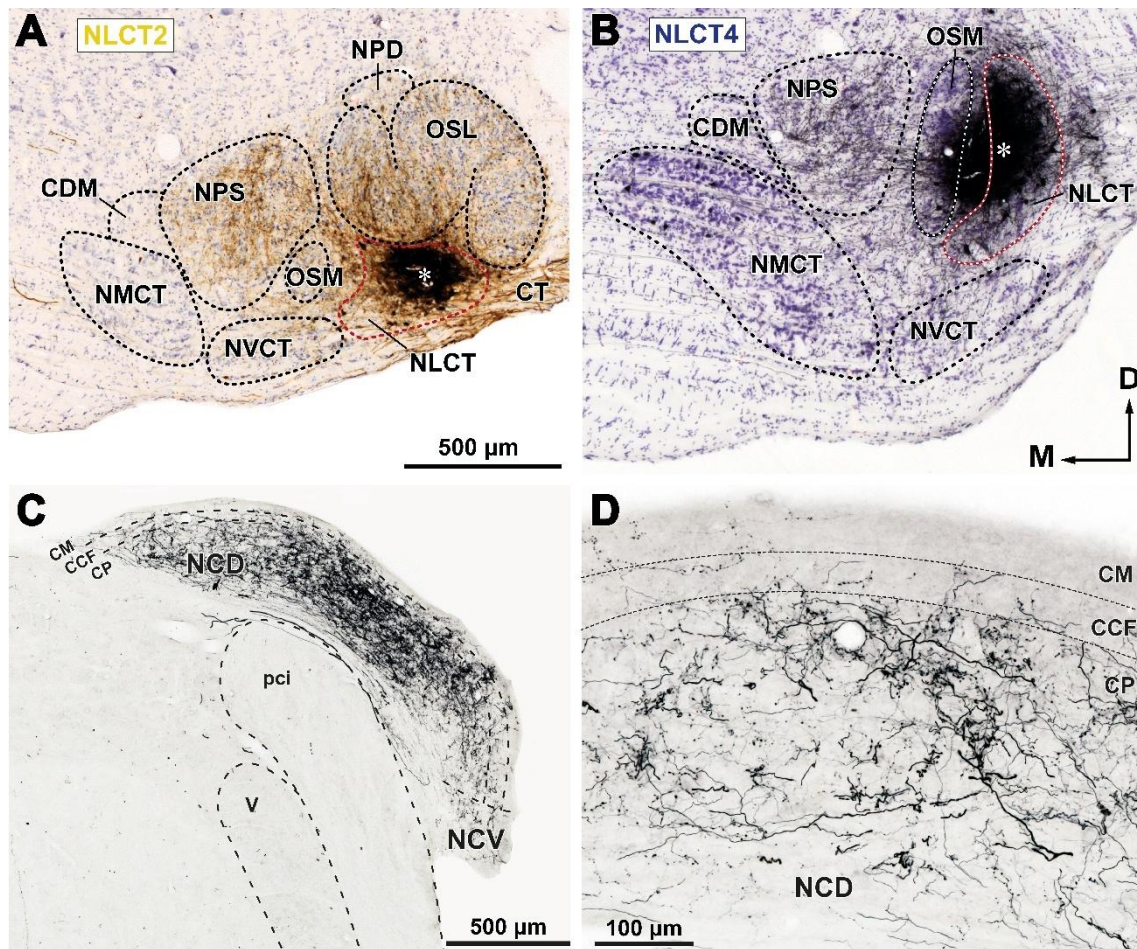


Figura 8. Proyección del núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT) al núcleo coclear dorsal (NCD) ipsilateral. **A, B.** Zonas de inyección en el NLCT de los casos NLCT2 y NLCT4. El asterisco indica el centro de la zona de inyección. **C.** Plexo de axones terminales marcados en las capas profundas del NCD. Caso NLCT2. **D.** Detalle de los axones marcados en el NCD del caso NLCT4. Obsérvese la escasez de axones en la capa molecular (CM). La barra de aumento de A sirve también para B. Otras abreviaturas: CCF, capa de las células fusiformes; CP, capa profunda; CT: cuerpo trapezoide; NCV, núcleo coclear ventral; pci, pedúnculo cerebeloso inferior; V, fascículo espinal del trigémino. Otras abreviaturas: ver Figura 2.

En todos los casos, con independencia de la posición rostral o caudal de la zona de inyección, observamos neuronas marcadas retrógradamente dentro del propio núcleo (Fig. 9A). Estas neuronas se distribuyen por toda la extensión rostrocaudal del NLCT, sin una clara topografía lateromedial o dorsoventral. Por su forma, parecen pertenecer a los dos tipos que hemos identificado: grandes y pequeñas (Fig. 9B). La presencia de neuronas marcadas a gran distancia de la zona de inyección sugiere que el NLCT posee conexiones intrínsecas.

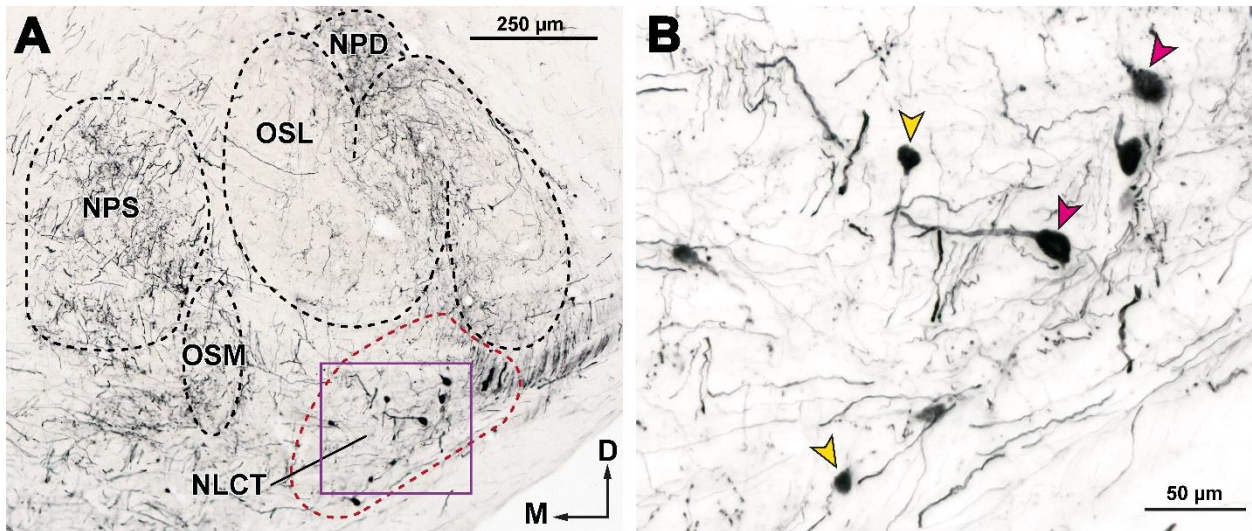


Figura 9. Conexiones intrínsecas del núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT). **A.** Sección coronal 640 μm más rostral que la zona de inyección en el NLCT. El NLCT (delimitado en rojo) contiene numerosas neuronas marcadas retrógradamente. **B.** Fotografía a mayor aumento del área de A delimitada por el cuadrado morado. Puntas de flecha magentas, neuronas grandes; puntas de flecha amarillas, neuronas pequeñas. Otras abreviaturas: ver Figura 2.

5.2.2. Casos con inyección de BDA en el núcleo coclear dorsal (NCD)

De los cinco casos con inyección de BDA en el NCD, en tres de ellos (NCD1, NCD2 y NCD3) la zona de inyección afectó preferentemente a la capa profunda del núcleo. En los otros dos (NCD4 y NCD5), la inyección afectó sobre todo a la capa superficial o molecular (Fig. 10).

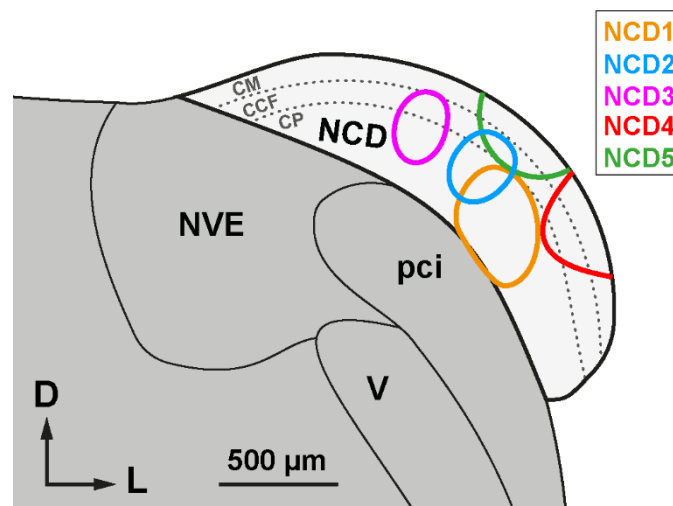


Figura 10. Esquema de las zonas de inyección en el núcleo coclear dorsal (NCD). Abreviaturas: CCF, capa de las células fusiformes; CM, capa molecular; CP, capa profunda; NVE, núcleo vestibular espinal; pci, pedúnculo cerebeloso inferior, V, fascículo espinal del trigémino.

En todos los casos encontramos neuronas marcadas retrógradamente en los núcleos que se sabe que inervan al NCD, incluidos el núcleo coclear posteroventral y el núcleo medial del cuerpo trapezoide de su mismo lado, el núcleo ventral del cuerpo trapezoide contralateral y el colículo inferior de ambos lados. Estos datos confirman descripciones anteriores de las aferencias al NCD^{2,3,4,7,24,25}.

En los cinco casos observamos neuronas marcadas retrógradamente en el NLCT ipsilateral a la zona de inyección. El número de neuronas marcadas se relacionó con la posición de la zona de inyección en el NCD. Se marcaron más neuronas en los casos con inyección profunda (NCD1, 2 y 3) que en los casos con inyección superficial (NCD4 y 5) (Tabla 1), una observación coherente con la distribución de los axones de las neuronas del NLCT descrita más arriba.

CASO	NLCTi	COSi	TOTAL	% COSi	% TOTAL
NCD1	176	340	593	51.76	29.68
NCD2	182	301	473	60.47	38.48
NCD3	78	104	172	75.00	45.35
NCD4	64	126	296	50.79	21.62
NCD5	20	39	181	51.28	11.05

Tabla 1. Número de neuronas marcadas retrógradamente en los cinco casos con inyección de BDA en el núcleo coclear dorsal (NCD). Para cada caso, se especifica el número de neuronas marcadas en el núcleo lateral del cuerpo trapezoide ipsilateral a la zona de inyección (NLCTi), en todo el complejo olivar superior ipsilateral (COSi) y en todo el cerebro (Total). Las dos últimas columnas expresan qué porcentaje de las neuronas marcadas en el COS ipsilateral (COSi) y qué porcentaje de las neuronas marcadas en todo el cerebro (% Total) representan las neuronas marcadas en el NLCT.

La Figura 11 muestra secciones representativas del COS ipsilateral del caso NCD1, correspondientes a los niveles ilustrados en la Figura 6. En todas ellas se aprecian neuronas marcadas en el NLCT, lo que indica que se distribuyen por toda la extensión rostrocaudal del núcleo. En las secciones caudales, las neuronas marcadas se sitúan preferentemente en la parte dorsal del núcleo (Fig. 11A-C), mientras que en las secciones rostrales muestran una distribución más amplia (Fig. 11D, E). La mayoría de las neuronas marcadas poseen un soma triangular o poligonal del que parten dendritas gruesas, rectilíneas y poco ramificadas (Fig. 12). Por su forma y distribución dentro del núcleo, estas neuronas parecen corresponder a las neuronas grandes descritas con el método de Giemsa.

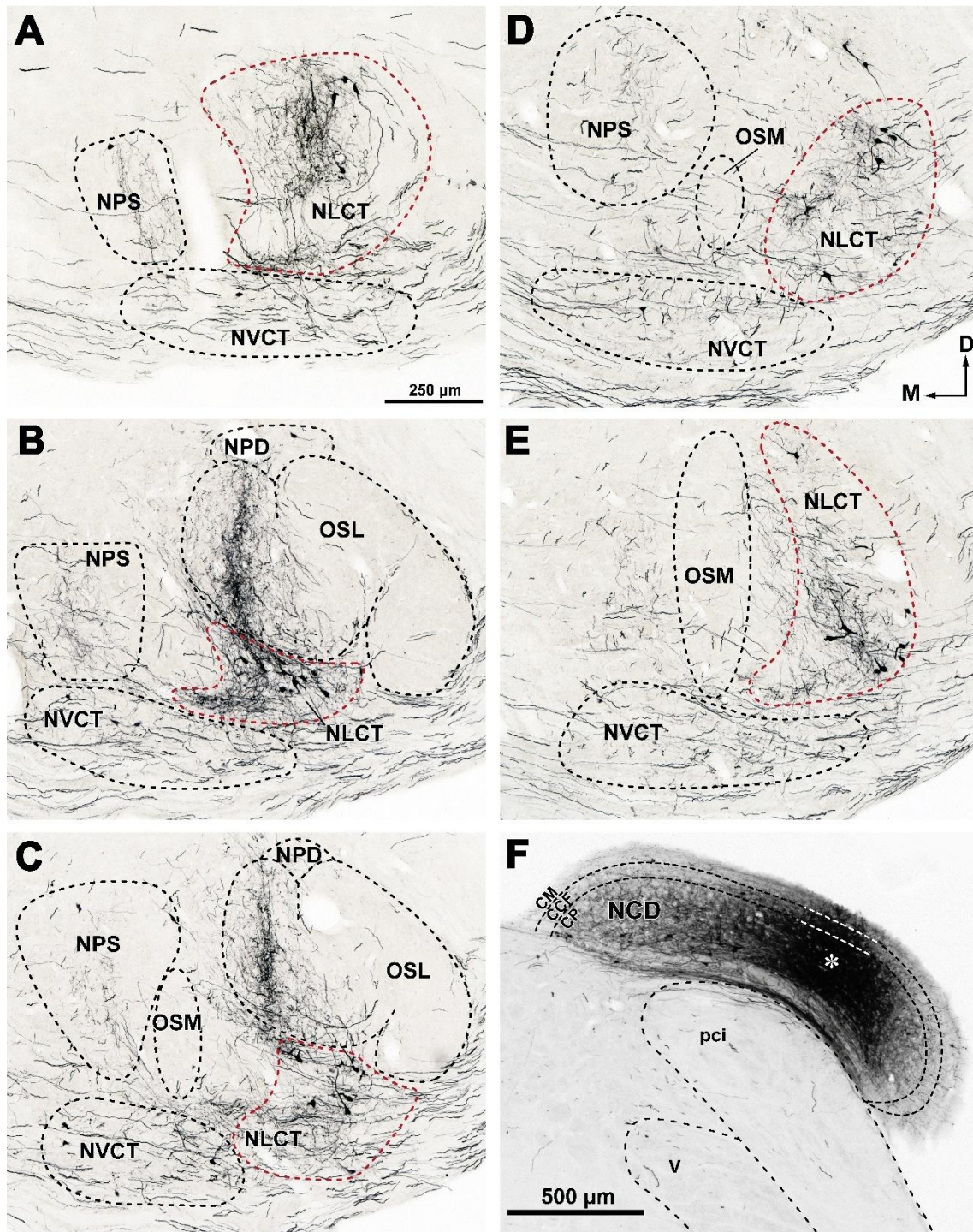


Figura 11. Neuronas marcadas retrógradamente en núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT) tras la inyección de dextrano biotinado (BDA) en el núcleo coclear dorsal (NCD) ipsilateral. Caso NCD1. **A-E.** Distribución de las neuronas marcadas en el NLCT (delimitado en rojo) en los cinco niveles del complejo olivar superior (COS) correspondientes a los de la Figura 6. La barra de aumento de A sirve también para B-E. **F.** Zona de inyección en el NCD, cuyo centro está indicado con el asterisco blanco. Otras abreviaturas: ver Figuras 2 y 10.

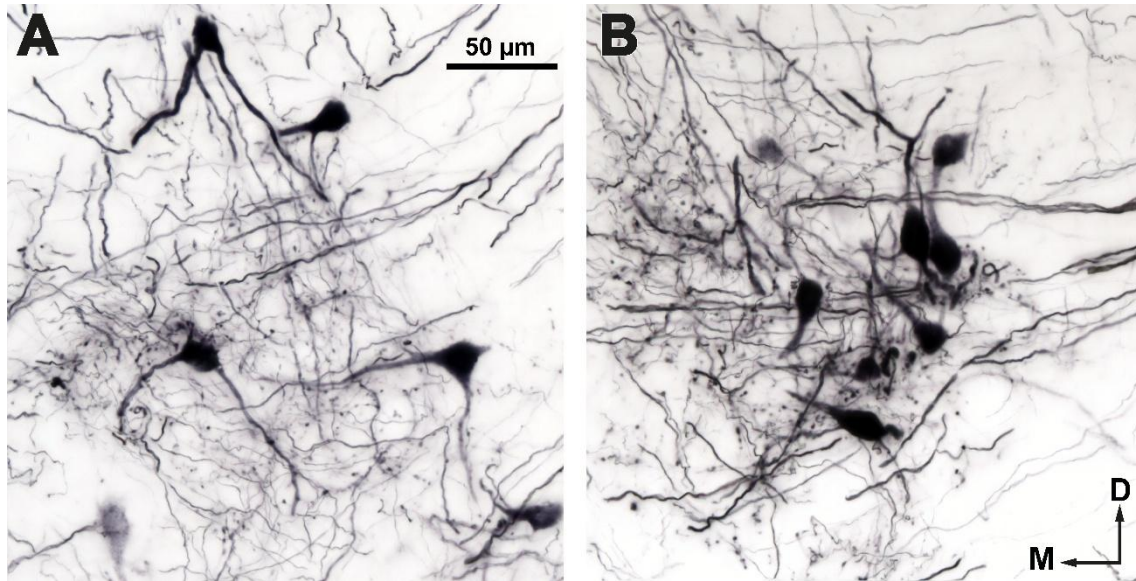


Figura 12. Detalle de las neuronas marcadas en el núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT) tras la inyección de dextrano biotinado (BDA) en el núcleo coclear dorsal (NCD) ipsilateral. Caso NCD2. La barra de aumento de A sirve también para B.

6. DISCUSIÓN

En este TFG hemos caracterizado citoarquitectónicamente el núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT) de la rata. Nuestros experimentos de trazado de vías nerviosas han demostrado que este núcleo envía una proyección densa y difusa a las capas profundas del núcleo coclear dorsal (NCD) ipsilateral, y que esta proyección se origina en neuronas multipolares, relativamente grandes, repartidas por toda la extensión rostrocaudal del NLCT. Además, nuestros datos sugieren que las neuronas del NLCT se comunican entre sí a través de una red de conexiones intrínsecas. A continuación, discutimos estos y otros aspectos.

6.1. Consideraciones técnicas

Para nuestro estudio citoarquitectónico hemos seleccionado el método de Giemsa en vez del método de Nissl, más habitual. El método de Giemsa proporciona una brillante coloración añil de los somas neuronales, que contrasta claramente con la coloración azulada del núcleo de las células gliales y endoteliales. Este procedimiento emplea dos colorantes iónicos: el colorante aniónico eosina Y, responsable de la tinción rosada del neuropilo, y el colorante catiónico azul B, un derivado del azul de metileno, responsable de la tinción azulada del ADN de los núcleos y de la tinción añil del ARN de los ribosomas citoplasmáticos. Aunque no está claro cómo el azul B genera dos colores, la hipótesis más

plausible para esta policromasia es que las moléculas de azur B unidas al ARN se combinen electrostáticamente con la eosina Y para formar eosinatos de azur, más oscuros que el propio azur B^{26,27}. En cualquier caso, el método de Giemsa ha resultado especialmente útil para caracterizar las neuronas del NLCT y especialmente las neuronas pequeñas, cuyo escaso citoplasma se tiñe pobremente con el método de Nissl.

El dextrano biotinado (BDA) es un excelente trazador bidireccional que marca con gran nitidez los axones de las neuronas de la zona de inyección, incluidas sus ramificaciones más distales y sus especializaciones sinápticas²⁸. Además, marca retrógradamente las neuronas que inervan a la zona de inyección²⁹. Esta bidireccionalidad nos ha permitido emplear el mismo trazador para los experimentos de trazado anterógrado y los de trazado retrógrado.

Una de las principales virtudes del BDA como trazador neuroanatómico es que, inyectado iontoforéticamente, genera zonas de inyección muy pequeñas. Esto fue crucial en nuestros experimentos, dado el reducido diámetro del NLCT y el NCD. El NLCT de la rata, por su forma cambiante en sentido rostrocaudal, es un blanco difícil para la inyección, por lo que es frecuente que los núcleos circundantes se vean afectados. En nuestros casos se afectaron el limbo lateral de la oliva superior lateral (OSL) en el caso NLCT1 y la parte lateral de la oliva superior medial (OSM) en el caso NLCT4. Dado que ninguno de estos dos núcleos envía proyecciones al NCD, podemos concluir que los axones que observamos en este núcleo pertenecen al NLCT. El núcleo que sí inerva al NCD es el núcleo ventral del cuerpo trapezoide (NVCT), situado adyacente al NLCT en el complejo olivar superior. Si en nuestros experimentos el trazador hubiera difundido al NVCT, se habría marcado un tupido plexo axónico en la capa molecular del NCD contralateral⁷, algo que no ocurrió. Por otra parte, en nuestros experimentos con inyección de BDA en el NCD, la pequeñez de las zonas de inyección fue fundamental para apreciar la diferencia entre el número de neuronas del NLCT que inervan a las capas profundas y el de las neuronas que inervan a la capa superficial.

6.2. Citoarquitectura del núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT)

La primera descripción del NLCT la realizó Santiago Ramón y Cajal en 1896³⁰ y lo denominó núcleo preolivar externo (por su posición por delante y por fuera de la OSL) o núcleo semilunar (por la manera en la que, en el gato, contornea el borde ventral de la OSL) (Fig. 13).

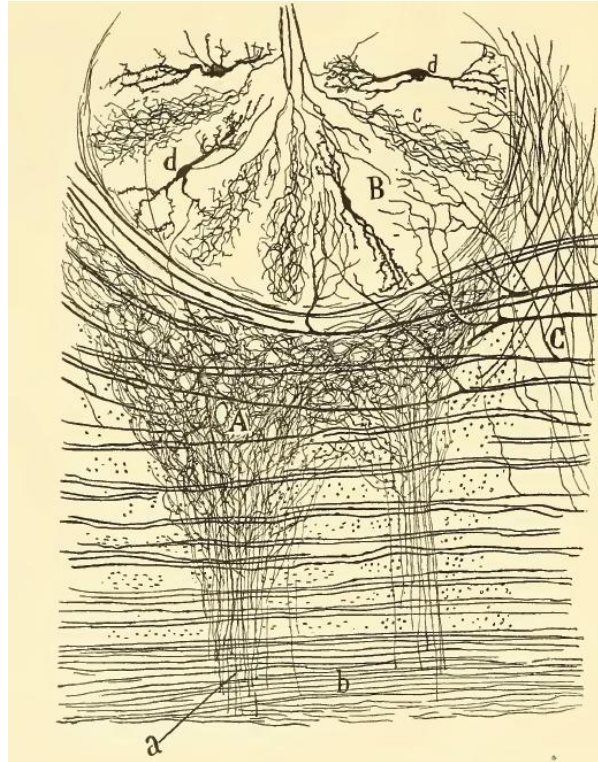


Figura 13. Primer dibujo publicado del núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT). Tomado de Ramón y Cajal (1896), figura 23a. (30). **A.** NLCT; **B.** Oliva superior lateral (OSL); **b.** Cuerpo trapezoide.

Desde su descubrimiento pasó casi un siglo sin contribuciones destacables acerca de la estructura del NLCT. En las últimas décadas, la arquitectura del NLCT se ha descrito en el gato^{31,32,33}, la cobaya¹¹, la musaraña^{9,34}, el murciélago de herradura³⁵ y, recientemente, el humano³⁶, pero no en la rata. En el NLCT del gato se han diferenciado tres subnúcleos: el NLCT medial, el hiliar y el posteroventral³¹. En nuestro material histológico no hemos podido distinguir claramente estas tres subdivisiones. No obstante, la segregación topográfica entre nuestras neuronas grandes, más dorsales, y nuestras neuronas pequeñas, más ventrales, es parcialmente compatible con las divisiones medial y posteroventral del gato.

6.3. Conexiones del núcleo lateral del cuerpo trapezoide (NLCT)

Nuestros experimentos demuestran que el núcleo coclear dorsal (NCD) es innervado por abundantes neuronas del NLCT de su mismo lado. Esta observación es coherente con descripciones anteriores en las que se marcaron neuronas en el NLCT después de haber inyectado distintos trazadores en el NCD de mamíferos como la rata^{7,12}, el gato^{10,37,38,39}, la cobaya^{11,24,40,41,42}, la musaraña⁹ y el murciélago de herradura³⁵. Igual que en el gato¹⁰, también en la rata las neuronas que innervan al NCD se reparten por toda la extensión

rostrocaudal del NLCT. Un aspecto novedoso de nuestro trabajo ha sido el identificar a estas células como neuronas grandes, poligonales o fusiformes, y situadas predominantemente en la región dorsal del núcleo. Dado que el NLCT de la rata contiene alrededor de 2100 neuronas⁴³, el número de neuronas marcadas en nuestros experimentos puede parecer modesto. Sin embargo, hay que tener en cuenta que en nuestros experimentos se marcaron más neuronas que en los de Doucet y Ryugo (2003)¹², llevados a cabo con la misma técnica. Además, cada una de nuestras inyecciones afectó sólo a una pequeña porción del NCD, por lo que es probable que el número total de neuronas del NLCT que proyectan al NCD sea mucho mayor.

Por otra parte, nuestras inyecciones de BDA en el NLCT ponen de manifiesto que este núcleo inerva preferentemente a las capas profundas del NCD. Coinciden así con las escasas descripciones anteriores de esta proyección^{9,10}. A diferencia de estos estudios previos, que, debido a las limitaciones de los métodos de trazado autorradiográficos, no permitieron apreciar la morfología de los axones, nuestros resultados proporcionan una imagen nítida de esta proyección.

Otro aspecto original de nuestro estudio, no buscado inicialmente, ha sido descubrir que el NLCT de la rata posee un sistema de conexiones intrínsecas. Esta conclusión es apoyada por la abundancia en el NLCT del gato de botones sinápticos glicinérgicos, que presumiblemente pertenecen a neuronas del propio núcleo³². Además, en un estudio reciente se comprobó que algunas neuronas del NLCT del gerbo dejan colaterales axónicas locales⁴⁴. Por último, se ha visto que, cuando se estimula eléctricamente el NLCT en rodajas del cerebro del gerbo, se generan en el propio núcleo potenciales postsinápticos inhibidores disinápticos, que sólo pueden explicarse por medio de una conexión intrínseca⁴⁴. Parece pues probable que la existencia de conexiones intrínsecas en el NLCT sea una característica compartida por todos los mamíferos.

6.4. Consideraciones funcionales

El papel de la proyección del NLCT al NCD dependerá lógicamente de la naturaleza neuroquímica de las neuronas responsables y de sus blancos postsinápticos. Aunque no sabemos si las neuronas que nos interesan son excitadoras o inhibitoras, algunos datos de la literatura especializada sugieren que se trata de una proyección excitadora. Por una parte, cuando se lesiona el cuerpo trapezoide (por donde viaja la proyección que hemos estudiado), disminuye significativamente la concentración del aminoácido excitador

De nuestras investigaciones se desprende que el NCD de los mamíferos pueden intervenir en funciones más variadas y complejas de lo que se suele asumir. Nuestros resultados pueden servir de punto de partida para nuevos descubrimientos sobre este núcleo.

7. CONCLUSIONES

PRIMERA

El núcleo lateral del cuerpo trapezoide de la rata es una agrupación neuronal que se extiende rostrocaudalmente por la región ventrolateral del complejo olivar superior. Su mitad caudal abraza caudal y ventralmente a la oliva superior lateral, mientras que su mitad rostral se dispone lateral a la oliva superior medial. Este núcleo posee dos tipos neuronales: las neuronas grandes, de posición preferentemente dorsal, y las neuronas pequeñas, más ventrales.

SEGUNDA

El núcleo lateral del cuerpo trapezoide envía una proyección densa y difusa a la capa profunda del núcleo coclear dorsal de su mismo lado. Esta proyección parte de neuronas grandes distribuidas por toda la extensión rostrocaudal del núcleo.

TERCERA

El núcleo lateral del cuerpo trapezoide de la rata posee una red de conexiones intrínsecas probablemente inhibitorias.

CUARTA

El núcleo lateral del cuerpo trapezoide es el núcleo más bajo de la vía auditiva que envía una proyección descendente al núcleo coclear dorsal. Esta proyección, que es presumiblemente excitadora, podría participar en un rápido circuito de retroalimentación útil para suprimir los ecos.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Ansorge J, Wu C, Shore SE, Krieger P. Audiotactile interactions in the mouse cochlear nucleus. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 6887. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86236-9>
2. Caicedo A, Herbert H. Topography of descending projections from the inferior colliculus to auditory brainstem nuclei in the rat. *J Comp Neurol.* 1993; 328(3): 377-92. <https://doi.org/10.1002/cne.903280305>
3. Saldaña E. Descending projections from the inferior colliculus to the cochlear nuclei in mammals. In: Merchán MA, Juiz JM, Godfrey DA, Mugnaini E, editors. *The Mammalian Cochlear Nuclei: Organization and Function.* Boston, MA: Springer US; 1993, pp 153-65. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2932-3_13
4. Balmer TS, Trussell LO. Descending axonal projections from the inferior colliculus target nearly all excitatory and inhibitory cell types of the dorsal cochlear nucleus. *J Neurosci.* 2022; 42(16): 3381-93. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1190-21.2022>
5. Saldaña E. All the way from the cortex: A review of auditory corticosubcollicular pathways. *Cerebellum.* 2015; 14(5): 584-96. <https://doi.org/10.1007/s12311-015-0694-4>
6. Oertel D, Young ED. What's a cerebellar circuit doing in the auditory system? *Trends Neurosci.* 2004; 27(2): 104-10. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2003.12.001>
7. Gómez-Martínez M, Rincón H, Gómez-Álvarez M, Gómez-Nieto R, Saldaña E. Projections from the ventral nucleus of the trapezoid body to the dorsal cochlear nucleus in the rat: Morphology, distribution, and cellular origin. *Hear Res.* 2025; 458: 109200. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2025.109200>
8. Gómez-Martínez M, Rincón H, Gómez-Álvarez M, Gómez-Nieto R, Saldaña E. The nuclei of the lateral lemniscus: unexpected players in the descending auditory pathway. *Front Neuroanat.* 2023; 17: 1242245. <https://doi.org/10.3389/fnana.2023.1242245>
9. Covey E, Jones DR, Casseday JH. Projections from the superior olivary complex to the cochlear nucleus in the tree shrew. *J Comp Neurol.* 1984; 226(2): 289-305. <https://doi.org/10.1002/cne.902260212>
10. Spangler KM, Cant NB, Henkel CK, Farley GR, Warr WB. Descending projections from the superior olivary complex to the cochlear nucleus of the cat. *J Comp Neurol.* 1987; 259(3): 452-65. <https://doi.org/10.1002/cne.902590311>
11. Shore SE, Helfert RH, Bledsoe SC, Altschuler RA, Godfrey DA. Descending projections to the dorsal and ventral divisions of the cochlear nucleus in guinea pig. *Hear Res.* 1991; 52(1): 255-68. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(91\)90205-N](https://doi.org/10.1016/0378-5955(91)90205-N)
12. Doucet JR, Ryugo DK. Axonal pathways to the lateral superior olive labeled with biotinylated dextran amine injections in the dorsal cochlear nucleus of rats. *J Comp Neurol.* 2003; 461(4): 452-65. <https://doi.org/10.1002/cne.10722>
13. Lanciego JL, Wouterlood FG. Neuroanatomical tract-tracing techniques that did go viral. *Brain Struct Funct.* 2020; 225(4): 1193-224. <https://doi.org/10.1007/s00429-020-02041-6>
14. Iñiguez C, Gayoso MJ, Carreres J. A versatile and simple method for staining nervous tissue using Giemsa dye. *J Neurosci Meth.* 1985; 13(1): 77-86. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90045-7](https://doi.org/10.1016/0165-0270(85)90045-7)
15. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 6th Edition.* Amsterdam Heidelberg: Elsevier Academic Press; 2009.
16. Gómez Álvarez M. Nuevas ideas sobre la función del complejo olivar superior basadas en sus conexiones. Salamanca: Universidad de Salamanca; 2014. <https://doi.org/10.14201/gredos.132277>

17. Friauf E, Ostwald J. Divergent projections of physiologically characterized rat ventral cochlear nucleus neurons as shown by intra-axonal injection of horseradish peroxidase. *Exp Brain Res.* 1988; 73(2): 263–284. <https://doi.org/10.1007/BF00248219>
18. Coleman JR, Clerici WJ. Sources of projections to subdivisions of the inferior colliculus in the rat. *J Comp Neurol.* 1987; 262(2): 215-26. <https://doi.org/10.1002/cne.902620204>
19. Saldaña E, Aparicio MA, Fuentes-Santamaría V, Berrebi AS. Connections of the superior paraolivary nucleus of the rat: projections to the inferior colliculus. *Neuroscience.* 2009; 163(1): 372-87. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.06.030>
20. Kelly JB, Van Adel BA, Ito M. Anatomical projections of the nuclei of the lateral lemniscus in the albino rat (*Rattus norvegicus*). *J Comp Neurol.* 2009; 512(4): 573-93. <https://doi.org/10.1002/cne.21929>
21. Felix II RA, Gourévitch B, Gómez-Álvarez M, Leijon SCM, Saldaña E, Magnusson AK. Octopus cells in the posteroventral cochlear nucleus provide the main excitatory input to the superior paraolivary nucleus. *Front Neural Circuits.* 2017; 11: 37. <https://doi.org/10.3389/fncir.2017.00037>
22. Zimmerman R, Smith A, Fech T, Mansour Y, Kulesza RJ. In utero exposure to valproic acid disrupts ascending projections to the central nucleus of the inferior colliculus from the auditory brainstem. *Exp Brain Res.* 2020; 238(3): 551-63. <https://doi.org/10.1007/s00221-020-05729-7>
23. Mansour Y, Ahmed SN, Kulesza R. Abnormal morphology and subcortical projections to the medial geniculate in an animal model of autism. *Exp Brain Res.* 2021; 239(2): 381-400. <https://doi.org/10.1007/s00221-020-05982-w>
24. Schofield BR. Projections to the cochlear nuclei from principal cells in the medial nucleus of the trapezoid body in guinea pigs. *J Comp Neurol.* 1994; 344(1): 83-100. <https://doi.org/10.1002/cne.903440107>
25. Doucet JR, Ryugo DK. Projections from the ventral cochlear nucleus to the dorsal cochlear nucleus in rats. *J Comp Neurol.* 1997; 385(2): 245-64. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19970825\)385:2<245::AID-CNE5>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19970825)385:2<245::AID-CNE5>3.0.CO;2-1)
26. Horobin RW, Walter KJ. Understanding Romanowsky staining. *Histochemistry.* 1987; 86: 331-336. <https://doi.org/10.1007/BF00490267>
27. Kiernan JA. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. 5th edition.* Bloxham: Scion; 2015.
28. Van Haeften T, Wouterlood FG. Neuroanatomical tracing at high resolution. *J Neurosci Meth.* 2000; 103(1): 107-16. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(00\)00300-9](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(00)00300-9)
29. Fritzsche B. Fast axonal diffusion of 3000 molecular weight dextran amines. *J Neurosci Meth.* 1993; 50(1): 95-103. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(93\)90060-5](https://doi.org/10.1016/0165-0270(93)90060-5)
30. Ramón y Cajal S. *Beitrag zum Studium der Medulla oblongata des Kleinhirns und des Ursprungs der Gehirnnerven.* Leipzig: J.A. Barth; 1896. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.61878>
31. Spirou GA, Berrebi AS. Organization of ventrolateral periolivary cells of the cat superior olive as revealed by PEP-19 immunocytochemistry and Nissl stain. *J Comp Neurol.* 1996; 368(1): 100-20. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19960422\)368:1<100::AID-CNE7>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19960422)368:1<100::AID-CNE7>3.0.CO;2-7)
32. Spirou GA, Berrebi AS. Glycine immunoreactivity in the lateral nucleus of the trapezoid body of the cat. *J Comp Neurol.* 1997; 383(4): 473-88. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(19970714\)383:4<473::aid-cne6>3.0.co;2-#](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(19970714)383:4<473::aid-cne6>3.0.co;2-#)

33. Berrebi AS, Spirou GA. PEP-19 immunoreactivity in the cochlear nucleus and superior olive of the cat. *Neuroscience*. 1998; 83(2): 535-54. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00407-7](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00407-7)
34. Zacher AC, Felmy F. Anatomy of superior olivary complex and lateral lemniscus in Etruscan shrew. *Sci Rep*. 2024; 14(1): 14734. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-65451-0>
35. Vater M, Feng AS. Functional organization of ascending and descending connections of the cochlear nucleus of horseshoe bats. *J Comp Neurol*. 1990; 292(3): 373-95. <https://doi.org/10.1002/cne.902920305>
36. Kulesza RJ. Cytoarchitecture of the human superior olivary complex: Nuclei of the trapezoid body and posterior tier. *Hear Res*. 2008; 241(1-2): 52-63. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2008.04.010>
37. Elverland HH. Descending connections between the superior olivary and cochlear nuclear complexes in the cat studied by autoradiographic and horseradish peroxidase methods. *Exp Brain Res*. 1977; 27: 397-412. <https://doi.org/10.1007/BF00235512>
38. Adams JC. Cytology of periolivary cells and the organization of their projections in the cat. *J Comp Neurol*. 1983; 215(3): 275-89. <https://doi.org/10.1002/cne.902150304>
39. Behrens EG, Schofield BR, Thompson AM. Aminergic projections to cochlear nucleus via descending auditory pathways. *Brain Res*. 2002; 955(1-2): 34-44. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)03351-6](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)03351-6)
40. Winter IM, Robertson D, Cole KS. Descending projections from auditory brainstem nuclei to the cochlea and cochlear nucleus of the guinea pig. *J Comp Neurol*. 1989; 280(1): 143-57. <https://doi.org/10.1002/cne.902800110>
41. Benson CG, Potashner SJ. Retrograde transport of [³H]glycine from the cochlear nucleus to the superior olive in the guinea pig. *J Comp Neurol*. 1990; 296(3): 415-26. <https://doi.org/10.1002/cne.902960307>
42. Ostapoff EM, Benson CG, Saint Marie RL. GABA- and glycine-immunoreactive projections from the superior olivary complex to the cochlear nucleus in guinea pig. *J Comp Neurol*. 1997; 381(4): 500-12. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19970519\)381:4<500::AID-CNE9>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19970519)381:4<500::AID-CNE9>3.0.CO;2-6)
43. Kulesza RJ, Viñuela A, Saldaña E, Berrebi AS. Unbiased stereological estimates of neuron number in subcortical auditory nuclei of the rat. *Hear Res*. 2002; 168(1-2): 12-24. [https://doi.org/10.1016/S0378-5955\(02\)00374-X](https://doi.org/10.1016/S0378-5955(02)00374-X)
44. Roberts MT, Seeman SC, Golding NL. The relative contributions of MNTB and LNTB neurons to inhibition in the medial superior olive assessed through single and paired recordings. *Front Neural Circuits*. 2014; 8: 49. <https://doi.org/10.3389/fncir.2014.00049>
45. Godfrey Donald A, Farms WB, Polensek S, Dunn JD, Godfrey TG. Effects of brainstem lesions on amino acid levels in the rat cochlear nucleus. *Hear Res*. 2021; 403: 108187. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2021.108187>
46. Wickesberg R, Oertel D. Delayed, frequency-specific inhibition in the cochlear nuclei of mice: a mechanism for monaural echo suppression. *J Neurosci*. 1990; 10(6): 1762-8. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.10-06-01762.1990>