



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Medicina

Licenciatura en Biomedicina

Instituto de Fisiología

Laboratorio de Neurofisiología Integrativa

Análisis multiunitario de la excitabilidad neuronal después de la estimulación eléctrica ruidosa de los barriles

Para obtener el grado de:

Licenciada en Biomedicina

Presenta:

Diana Guadalupe Cruz Gómez

Director de Tesis:

Dr. Elias Manjarrez López

Codirectora de Tesis:

M en C. Mayra Moreno Castillo

Puebla 2021

Resumen

La estimulación eléctrica transcraneal ruidosa se emplea de manera rutinaria en la clínica médica para tratar diversos desordenes neuropsiquiátricos. Sin embargo, poco se conoce de sus mecanismos fisiológicos. En un trabajo previo, encontramos que 10 minutos de estimulación eléctrica ruidosa sobre la corteza somatosensorial de los barriles de la rata, produce un incremento en la amplitud de los potenciales provocados por estimulación mecánica de las vibrisas. Ello sugiere, que este incremento ocurre por un reclutamiento de neuronas de dicha región cortical, como consecuencia de un posible aumento en la excitabilidad neuronal. Para probar esta hipótesis, en la presente tesis hemos registrado la actividad eléctrica multiunitaria en el mismo modelo animal, con un sistema de multielectrodos Minimatrix de 5 canales. Encontramos que la señal multiunitaria, provocada por la estimulación mecánica de las vibrisas, exhibe un incremento estadísticamente significativo después de 10 minutos de estimulación eléctrica ruidosa sobre la corteza somatosensorial de los barriles. Este resultado es relevante, ya que aporta nuevo conocimiento para poder estudiar en un futuro los mecanismos neuronales que ocurren después de la estimulación eléctrica ruidosa de la corteza cerebral.

Índice

1. Antecedentes

1.1 Antecedentes generales

1.1.1 Ruido

1.1.1.1 Resonancia estocástica

1.1.1.2 Resonancia estocástica en la biología

1.1.1.3 Ruido y resonancia estocástica en el sistema nervioso

1.1.1.4 Estimulación eléctrica como fuente de ruido

1.1.2 Corteza somatosensorial

1.1.2.1 Corteza de los barriles

1.1.2.1.1 Organización funcional

1.1.2.1.2 Circuitos neuronales

1.1.3 Receptores sensoriales: vibrisas

1.1.3.1 Organización de las vibrisas

1.1.3.2 Fisiología de las vibrisas

1.2 Antecedentes específicos

1.2.1 Resonancia estocástica en sistemas sensoriales

1.2.2 Electrocorticografía usando estimulación eléctrica ruidosa sobre corteza en sistemas vivos

2. Justificación

3. Planteamiento del problema

4. Hipótesis científica

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

5.2 Objetivos específicos

6. Material y métodos

6.1 Selección de la muestra

6.2 Aclaraciones bioéticas

6.3 Técnicas y procedimientos

6.4 Análisis de los datos

6.5 Pruebas estadísticas

7. Resultados

8. Discusión

9. Conclusión

10. Bibliografía

1. Antecedentes

1.1 Antecedentes generales.

1.1.1 Ruido

De acuerdo al Diccionario ingles de Oxford el ruido se define como "aquellas fluctuaciones o perturbaciones aleatorias o irregulares que no son parte de una señal y que pueden interferir con ella u oscurecerla. En general, el ruido es cualquier distorsión o adición que pueda interferir con la transferencia de información".

El ruido es una señal puramente aleatoria, cuyos valores instantáneos y / o de fase de la forma de onda, no puede predecirse en ningún momento. Las amplitudes de voltaje de ruido instantáneo tienen la misma posibilidad de ser positivas o negativas. Cuando se grafican estas amplitudes, forman un patrón aleatorio ubicado en cero. Puesto que las fuentes de ruido tienen amplitudes que varían aleatoriamente con el tiempo, sólo se pueden especificar mediante una función de densidad de probabilidad. La función de densidad de probabilidad más común es la Gaussiana. En una función de probabilidad Gaussiana, hay un valor medio de amplitud, que es más probable que ocurra. La probabilidad de que una amplitud de ruido sea mayor o menor que la media forma una curva de tipo campana, que es simétrica alrededor del centro (Mancini, 2002; Faisal y Cols., 2008).

En biología, el ruido generalmente se refiere a la variabilidad en los datos medidos cuando se repiten experimentos idénticos, o cuando las señales biológicas

no se pueden medir sin fluctuaciones de fondo, que distorsionen la medición deseada (McDonnell y Abbott, 2009).

El ruido, generalmente se considera perjudicial en la transferencia de información en sistemas lineales, pudiendo limitar la velocidad en la transmisión del mensaje; sin embargo, hay circunstancias en las que el ruido de fondo o las fluctuaciones impredecibles pueden aprovecharse, o incluso, introducirse para generar un beneficio. Tal es el caso de lo que ocurre en el cerebro. Al ser el cerebro un sistema no lineal, el ruido puede mejorar la transferencia de información por un fenómeno conocido como “resonancia estocástica” (Figura 1) (McDonnell y Abbott, 2009; Van der Groen y Col., 2019).

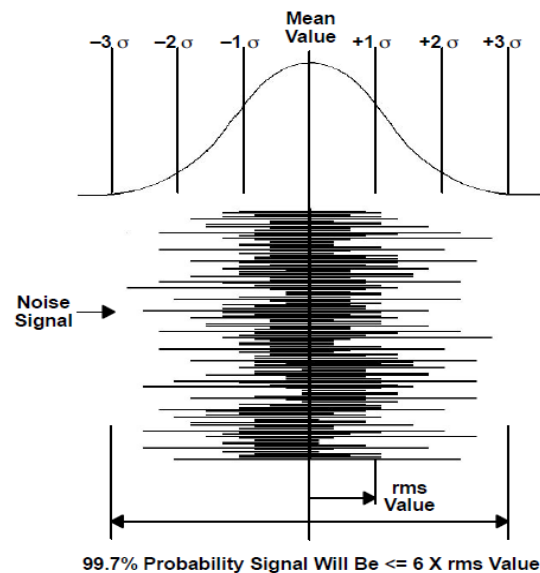


Figura 1. Escala de ruido

1.1.1.1 Resonancia estocástica

El término “resonancia estocástica”, fue utilizado por primera vez en el contexto del procesamiento de señales mejoradas por el ruido. Esa definición la introdujeron Roberto Benzi y colaboradores en 1981, en la Escuela Internacional de Climatología de la OTAN. Benzi y colaboradores estudiaban el problema del inicio periódico de las edades de hielo en la Tierra, donde la presencia de una fuerza aleatoria, que representaba fluctuaciones aleatorias del clima de la Tierra, hacía posible la transferencia entre el clima de la Tierra de su estado normal a la edad de hielo y viceversa. A este fenómeno lo denominaron resonancia estocástica (Benzi y Cols., 1981; McDonnell y Abbott, 2009; Sorokin y Demidov, 2021).

Naturalmente este fenómeno comenzó a ser mayormente estudiado en el área de la física, aunque en los últimos años su integración a las áreas biológicas, médicas y neurológicas ha llevado a resultados publicados, tanto teóricos como experimentales interesantes y útiles (McDonnell y Abbott, 2009; Sorokin y Demidov, 2021).

En sus primeros años, se definió sólo en el contexto específico de un sistema biestable que actúa sobre la combinación de una señal de entrada periódica y ruido aleatorio. Rápidamente su definición evolucionó a contextos más amplios. Actualmente este fenómeno se ha descrito en múltiples áreas de estudio. Además, se ha informado y cuantificado en sistemas tan diversos como modelos climáticos, circuitos electrónicos, ecuaciones diferenciales, láseres, modelos neuronales, poblaciones neuronales fisiológicas, reacciones químicas y canales iónicos, entre otros (McDonnell y Abbott, 2009).

En el año 2009, McDonnell y Abbott, en una revisión sobre el fenómeno de resonancia estocástica, mostraron la siguiente gráfica (Figura 2), evidenciando la creciente investigación sobre dicho fenómeno en los años posteriores a su integración en distintas áreas de estudio.

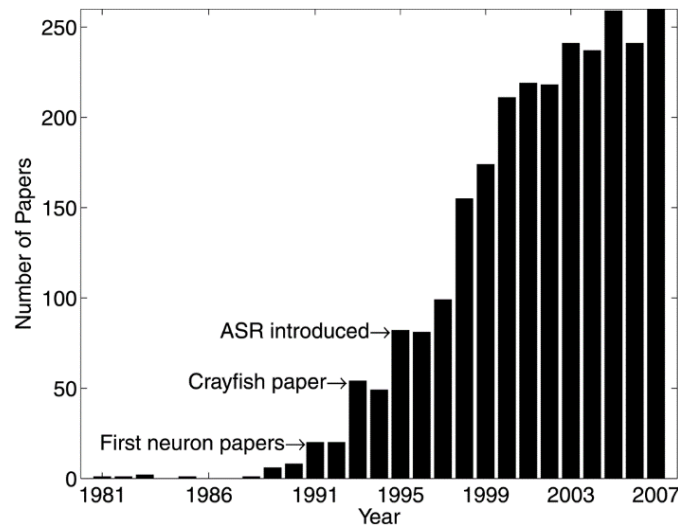


Figura 2. Gráfica del creciente interés sobre el fenómeno de resonancia estocástica.

Se trata de un proceso, mediante el cual, los sistemas que detectan y transmiten señales débiles, pueden mejorar su capacidad de detección y transmisión por la presencia de cierto nivel de ruido. A niveles de ruido bajo, la señal sensorial no pasa el umbral y se detectan pocas señales. Para niveles altos de ruido, la respuesta se ve dominada por éste. Sin embargo, cuando el nivel de ruido es intermedio (óptimo), el ruido permite que la señal alcance el umbral sin dominar la respuesta. La gráfica típica de la resonancia estocástica contra el nivel de ruido se muestra como una función en forma de U invertida, donde los extremos (cantidades muy pequeñas o muy grandes de ruido), indican que la señal de salida es muy baja.

Sin embargo, cuando el ruido añadido se ubica entre un rango intermedio diferente de cero (cuyo valor puede variar), ocurre una mejora en la transmisión de la señal en la salida del sistema (Manjarrez y Cols., 2003). Tal comportamiento se asimila a una resonancia, pero en función del nivel de ruido; de ahí el nombre resonancia estocástica, figura 3 (Gammaitoni y Cols., 1998).

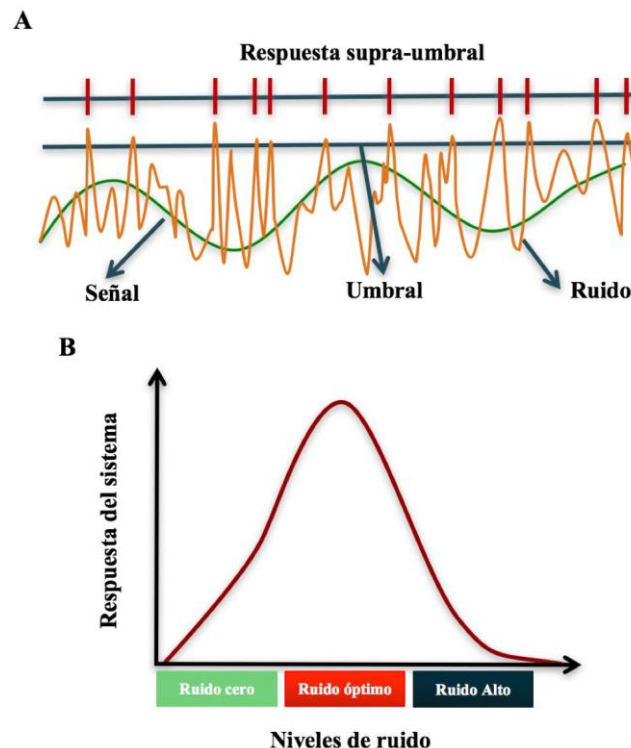


Figura 3. Escala

de los niveles de
ruido con respecto a la respuesta estocástica.

El efecto requiere tres componentes básicos: una barrera de activación energética, generalmente en forma de umbral, una entrada coherente débil (como

una señal periódica) y una fuente de ruido coherente en el sistema, o que se sume a la entrada coherente (Gammaitoni y Cols., 1998).

Ocurre cuando la aleatoriedad tiene un papel positivo en el contexto del procesamiento de señales. Este fenómeno, se observa experimentalmente cuando se añade ruido a un sistema no lineal y mejora la señal de salida del sistema, la amplitud de la señal, o el grado de coherencia dentro de las redes neuronales (Manjarrez y Cols., 2002a; Faisal y Cols., 2008; Garrett y Cols., 2013; Van der Groen y Cols., 2019).

Algunos métodos empleados para evidenciar el fenómeno de resonancia estocástica son (Gammaitoni y Cols., 1998):

- Amplificación del poder espectral.
- Relación señal-ruido. (RSR)
- Densidad de distribución del tiempo de permanencia; también conocida como histograma del intervalo de tiempo entre espigas.
- Amplitud de la respuesta.

1.1.1.2 Resonancia estocástica en la biología

La aleatoriedad, es en muchos sentidos una característica inherente de la biología, ya que el ruido está presente en todos sus niveles, desde los procesos moleculares subcelulares más básicos hasta la dinámica de tejidos, órganos,

organismos y poblaciones. La biología se ha basado durante mucho tiempo en premisas deterministas, que han llevado a un enfoque en la precisión de las interacciones moleculares para explicar los fenotipos y, en consecuencia, a la relegación de la aleatoriedad al estado marginal de "ruido". Sin embargo, los resultados de recientes experimentos, así como nuevos marcos teóricos, han desafiado este punto de vista y proporcionado explicaciones unificadoras que reconocen la dimensión estocástica intrínseca de diferentes procesos como un parámetro biológico, en lugar de considerarlo únicamente como ruido de fondo (Heams, 2014).

Las funciones del ruido en los procesos biológicos pueden variar enormemente (Tsimring, 2014). Esto se debe, en parte, a que los organismos biológicos dependen de sensores que transmiten señales del ambiente al sistema para el procesamiento de la información. Estos sensores, por lo general tienen una limitada sensibilidad, por lo que señales de entrada por debajo de cierto umbral no son detectadas (Krauss y Cols., 2017). Bajo esta perspectiva, el fenómeno de resonancia estocástica ha sido estudiado en diversos sistemas biológicos. Comenzando por Longtin y colaboradores en 1991, quienes estudiaron el efecto del ruido sobre las neuronas visuales del gato (Faisal y Cols., 2008). En 1993, Douglass y colaboradores, reportaron este mecanismo en la cola de las langostas proporcionando también evidencia de dicho fenómeno en el sistema nervioso de un ser vivo (Gammaitoni y Cols., 1998; Huidrobo y Cols, 2018). Posteriormente, en 1996, Levin y Miller reportaron la existencia de resonancia estocástica en las células ciliadas de los grillos (Gammaitoni y Cols., 1998). También se estudió en la conducta

de apareamiento de *Nezara viridula*, al detectar mayor número de señales de llamada acústicas de bajo umbral cuando se añadía ruido acústico Gaussiano. En otros estudios, se ha documentado que los mecanorreceptores cutáneos de la rata, pueden exhibir este fenómeno al activarlos con estímulos aperiódicos subumbrales con ruido añadido. Asimismo, este fenómeno, se ha encontrado en el comportamiento de caza del pez espátula, que usa señales eléctricas para cazar placton, lo que se ha interpretado como una forma de optimización de la caza por medio de la resonancia estocástica (Krauss y Cols., 2017). En el humano también se ha examinado la resonancia estocástica, en los husos musculares, en la vía visual, en la vía auditiva y en el control del equilibrio, entre otros ejemplos de modelos biológicos que presentan efectos de tipo estocástico (Faisal y Cols., 2008).

1.1.1.3 Ruido y resonancia estocástica en el sistema nervioso

El ruido está presente en todos los niveles del sistema nervioso, desde la percepción de las señales sensoriales, hasta la generación de respuestas motoras (Faisal y Cols., 2008). Esto hace que los eventos cerebrales sean variables de un momento a otro, sin importar el tipo de medición que se realice. Por ello, muchos investigadores han señalado este ruido neuronal como molesto. Sin embargo, en 1966, Lawrence Pinneo argumentó que esta variabilidad neuronal no es simplemente ruido, sino que permite la discriminación sensorial, el aprendizaje y quizá la salida estable y funcional de un sistema neuronal. En 1963, Arduini y

colaboradores ya habían empleado el término tónico para señalar la actividad fluctuante y continua del cerebro. Este concepto fue posteriormente retomado para señalar que esta tonicidad del cerebro proporciona el sustrato para una actividad neuronal efectiva (Garrett y Cols., 2013).

Este ruido neuronal se origina de fluctuaciones en la liberación de neurotransmisores, número de receptores postsinápticos activados, concentraciones de iones, conductividad de membrana y efectos de potenciales de acción anteriores, entre otros factores (Itzcovich y Cols., 2017).

Por otro lado, la no linealidad, es una característica común de las neuronas y las redes neuronales. Por ejemplo, la transmisión sináptica, este fenómeno es ruidoso debido a las diversas contribuciones de las corrientes de despolarización e hiperpolarización. Este ruido sináptico, aun en pequeñas cantidades, afecta a los sistemas neuronales, mejorando la respuesta a estímulos sinápticos independientes y sub-umbrales, concordando con la teoría de resonancia estocástica. Se ha documentado que la resonancia estocástica está presente desde las propiedades de membrana, hasta los procesos de codificación neuronal y funciones cerebrales superiores, como el comportamiento y el procesamiento cerebral (Itzcovich y Cols., 2017).

Es por ello, que las células neuronales han sido una buena referencia para evaluar los efectos del ruido, debido a su naturaleza de generar potenciales de acción solo cuando la señal de entrada supera un umbral. Bajo este principio, se ha hecho uso del ruido para transformar estas señales débiles en señales que alcancen

el umbral, facilitando la iniciación de picos, lo que a su vez puede mejorar el comportamiento de la red neuronal (Faisal y Cols., 2008).

Una propiedad general de la resonancia estocástica, es que la respuesta del sistema bajo investigación frente al ruido de entrada produce una curva en la relación señal ruido en forma de U invertida, con un incremento de respuesta de tipo “pico” con respecto a un nivel intermedio de ruido. Es precisamente en este valor de ruido “óptimo”, en el que la resonancia estocástica aumenta la sensibilidad del sistema para detectar señales que transportan información (Martínez y Cols., 2007).

Diversos paradigmas de resonancia estocástica se han llevado a cabo en humanos y se ha visto una mejora en la sensibilidad a las señales visuales débiles, en el procesamiento visual de personas con visión normal y en la discriminación en la dirección del movimiento. En un estudio magnetoencefalográfico (MEG), se observó que la adición de ruido Gaussiano en cantidades adecuadas incrementó significativamente la tasa de reconocimiento de palabras (Itzcovich y Cols., 2017). En este mismo sentido, se sabe que el ruido visual puede aumentar la sensibilidad de detección de contraste visual alrededor del nivel de umbral y, por lo tanto, mejorar procesos relevantes como el reconocimiento de patrones y la percepción de figuras ambiguas y tridimensionales. Esto último, se investigó mediante la adición de una fuente dinámica de ruido de píxeles de fondo, al evaluar la capacidad de los sujetos para percibir la dirección del movimiento en una tarea de movimiento con puntos aleatorios. Se encontró una mejora en la discriminación en estado estable de la dirección del movimiento de baja coherencia mediante la adición de ruido de fondo blanco con baja luminancia. Ello fue indicativo de un fenómeno de tipo de

resonancia estocástica, ya que las respuestas psicofísicas de los sujetos siguieron una función en forma de U invertida de la luminancia del ruido de entrada. Estos resultados sugieren que la resonancia estocástica podría desempeñar un papel importante en la forma en que el sistema visual humano procesa los estímulos sensoriales dinámicos. En este contexto, el fenómeno de resonancia estocástica podría emplearse para refinar el procesamiento de estímulos visuales dinámicos que mejoran el desempeño humano de manera no invasiva. En estudios recientes, Van der Groen y colaboradores demostraron que la estimulación ruidosa aleatoria transcraneal aplicada sobre la corteza visual mejora el rendimiento de detección de estímulos visuales subumbrales. Mostrando que al estimular con ruido aleatorio transcraneal durante 10 minutos aumenta la excitabilidad cortical hasta una hora posterior a la estimulación (Treviño y Cols., 2016).

Se ha propuesto también en el sistema auditivo un mecanismo adaptativo, cuyo objetivo principal es compensar la pérdida auditiva al optimizar constantemente la transmisión de información, que podría estar relacionado con el tinnitus como efecto secundario (Krauss y Cols., 2016).

La rivalidad binocular es un fenómeno que consiste en la variación periódica o intermitente de la percepción visual, cuando se presentan estímulos diferentes a ambos ojos, apareciendo una de las dos imágenes dominante, mientras que la otra permanece suprimida (Lázaro y Cols., 2011). La resonancia estocástica puede además influir en la dinámica de los sistemas biestables, como ocurre en el caso de la rivalidad binocular, demostrado por Van der Groen y colaboradores (Van der Groen y Cols., 2019).

Un estudio interesante fue realizado por Elena Itzcovich y colaboradores en 2017 en la universidad de Ludwig-Maximilians en Alemania, quienes llevaron a cabo un protocolo de resonancia estocástica en personas con discapacidad visual. En dicho estudio, incluyeron a individuos con discapacidad visual grave debida a retinitis pigmentosa, o trastornos de otras etiologías tales como miopía degenerativa, atrofia óptica y degeneración macular. El paradigma visual se modeló individualmente como el umbral que cada pixel necesitaba cruzar para ser distinguible del fondo. Las pruebas de electrofisiología visual consistieron en mostrar a los sujetos un conjunto de letras en secuencia, con y sin ruido añadidos en un monitor. El conjunto de 10 letras, se presentó dos veces a cada sujeto para un total de 20 letras por nivel de ruido, y se instruyó a los sujetos a informar de sobre el tipo de imagen presentada en la pantalla. Los resultados mostraron que el reconocimiento de las letras aumentó siempre que se añadió ruido, presentando una curva similar a la de la resonancia estocástica. Por lo que señalaron que el ruido Gaussiano óptimo aumentó la fracción de letras reconocidas por sujetos con trastornos que causan discapacidad visual grave. Esta condición es semejante a un fenómeno de resonancia estocástica, con efectos máximos en niveles de ruido compatibles con aquellos que se han demostrado óptimos en sujetos con visión normal. Estos resultados sugieren que la adición de ruido en el canal sensorial visual, en cantidades optimas, puede resultar en una mejor transmisión de la señal y sincronización neuronal, optimizada a nivel de neurona única y /o sincronización a gran escala, de las neuronas corticales también en sujetos con trastornos visuales (Itzcovich y Cols., 2017).

Los experimentos psicofísicos realizados en humanos por Manjarrez y colaboradores en 2002, mostraron que la presencia de cierto nivel de ruido táctil diferente de cero, puede mejorar significativamente la amplitud de las señales electroencefalográficas provocadas por estímulos táctiles, sugiriendo que el aumento en la capacidad de detección táctil, exhibe un comportamiento de resonancia estocástica a nivel neuronal. Específicamente, en este estudio se investigó si la actividad eléctrica de las neuronas corticales involucradas también mostraba tal comportamiento del tipo resonancia estocástica. Para esto se midieron las amplitudes de los potenciales provocados en la corteza somatosensorial, desencadenados por estímulos táctiles mecánicos (indentaciones aplicadas sobre la piel glabra de la porción medial del dedo medio izquierdo). También se aplicaron estímulos mecánicos subumbrales con ruido añadido o ruido solo. Se registró y analizó la actividad electroencefalográfica del lóbulo parietal derecho y regiones occipitales centrales de sujetos jóvenes sanos. Se observó que todos los sujetos mostraron un comportamiento de claro de resonancia estocástica. En los gráficos obtenidos de la relación señal ruido versus ruido de entrada, se mostraron características del fenómeno de resonancia estocástica. La relación señal ruido máxima de las curvas individuales se observó dentro del rango intermedio, en comparación con la actividad registrada en el lóbulo occipital. En esta región, no se observaron respuestas provocadas por los estímulos mecánicos, y no se obtuvo evidencia de resonancia estocástica (Manjarrez y Cols., 2002a).

No obstante, en este tipo de experimentos (psicofísicos), suelen observarse algunas discrepancias en la sensibilidad individual, que se explican por las fluctuaciones en procesos como fatiga, capacidad de atención, motivación,

expectativa, o interés por las consecuencias de la respuesta. Estas influencias pueden participar juntas o con otros determinantes, tales como variaciones menores en la magnitud del estímulo o ubicación, así como diferencias en la elasticidad de la piel, receptor densidad y umbrales de fibras aferentes. Además, la irregularidad de la actividad de fondo en la médula espinal, el tronco encefálico, niveles talámicos y corticales, y otras causas desconocidas pueden explicar los diferentes perfiles observados en los gráficos de resonancia estocástica obtenidos de experimentos individuales. La presente investigación documentó la primera descripción explícita de la ocurrencia de fenómenos de resonancia estocástica relacionados con la actividad eléctrica del cerebro humano. De la cual, los investigadores concluyeron que la salida de la relación señal ruido de la actividad cortical somatosensorial provocada por los estímulos táctiles mecánicos, se optimiza por la presencia de ruido (Manjarrez y Cols., 2002a).

Estos resultados dieron pauta a la investigación acerca de si el fenómeno de resonancia estocástica ocurre por sí mismo en el sistema somatosensorial cortico espinal, o si éste, solo ocurría en los receptores sensoriales periféricos. Para esclarecer esta pregunta realizaron una preparación in vivo en gatos anestesiados bajo dos protocolos de estimulación. En el primero, el estímulo táctil periódico y el estímulo táctil ruidoso, fueron aplicados con el mismo indentador colocado sobre la piel glabra de la almohadilla central de la extremidad posterior de los sujetos. En el segundo protocolo, el estímulo ruidoso táctil fue aplicado con un indentador adicional colocado sobre la piel glabra del tercer dígito de la extremidad posterior, mientras que el estímulo táctil periódico, fue colocado de acuerdo al primer protocolo. Este segundo protocolo, aseguró que la señal periódica y la señal ruidosa

no se mezclaran en la piel, sino hasta las regiones somatosensoriales del sistema nervioso central. Los resultados mostraron que todos los sujetos exhibían un claro comportamiento de resonancia estocástica por la estimulación táctil, en ambos niveles de codificación sensorial, espinal y cortical. Las gráficas obtenidas de cada gato, respecto a la relación señal ruido, se muestran como una función en forma de U invertida, permitiendo dar una descripción general aplicable a todos los casos. Se observó que a medida que la amplitud del ruido aumenta, los valores de la relación señal ruido también se incrementan. Por lo tanto, se pudo observar una pendiente positiva y un aumento de la función a medida que la curva se elevaba abruptamente y se volvía convexa. Se alcanzó un valor máximo de relación señal ruido, y la pendiente se volvió cero dentro de un intervalo particular de amplitudes de ruido. Más allá de ese pico, con amplitudes de ruido más altas, la pendiente se volvió negativa a medida que la curva disminuyó gradualmente. Esta modulación de la relación señal ruido sugiere con bastante certeza que la información transmitida a través del sistema somatosensorial también fue modulada por el ruido de entrada. En el segundo protocolo, donde el estímulo mecánico y el estímulo ruidoso fueron aplicados en distintas zonas de la piel, también se exhibió una mejora máxima de la amplitud de los potenciales provocados de campo para un valor de amplitud de ruido específico (es decir, se facilitaron los potenciales provocados espinales y corticales dentro de un intervalo particular de amplitudes de ruido). Además, todos los animales que se examinaron con el segundo protocolo, exhibieron un comportamiento del tipo resonancia estocástica, provocado por la estimulación táctil en la actividad espinal y cortical. Posteriormente, en los gatos, se realizó la sección de las columnas dorsales y el funículo dorsolateral ipsilateral. Se observó que el

comportamiento de resonancia estocástica fue abolido en la actividad cortical, pero no en los registros espinales. Estos experimentos mostraron que el rango de intensidades de ruido necesarias para la mejora de la relación señal ruido estaba dentro de los límites fisiológicos (1-4 mN), en el mismo rango en el que el ruido puede mejorar la sensación táctil en humanos (Manjarrez y Cols., 2003). Estas evidencias sugieren que el ruido podría desempeñar un papel fisiológico importante en la sensación táctil de las neuronas somatosensoriales, tanto en gatos, como en humanos.

Manjarrez y Cols., 2002b, también demostraron que este fenómeno ocurre en sistemas no lineales con ruido interno o externo, los cuales pueden mostrar un comportamiento de resonancia estocástica aun en ausencia de una señal periódica. A este fenómeno se le denomina resonancia estocástica autónoma, coherencia, resonancia de coherencia o resonancia estocástica interna. En este estudio, se comprobó la ocurrencia de este fenómeno por primera vez en una preparación in vivo. Se investigó cómo cambia la coherencia entre neuronas espinales y corticales en el sistema somatosensorial del gato anestesiado ante diferentes niveles de ruido táctil. Los resultados muestran que la coherencia entre la médula espinal y la actividad cortical provocada por estímulos ruidosos táctiles mecánicos, se incrementó cuando las cantidades apropiadas de ruido fueron utilizadas.

Un número considerable de publicaciones muestran evidencia en diversas neuronas aferentes o postsinápticas de primer orden que, para cada rango de frecuencia y amplitud de estímulo, hay un nivel intermedio de ruido que minimiza las distorsiones y optimiza la transmisión de información en la vía neural correspondiente (Manjarrez y Cols., 2002b).

1.1.1.4 Estimulación eléctrica como fuente de ruido

La estimulación eléctrica del cerebro del humano tiene una larga historia en el campo de la ciencia y la medicina. En 1867, Helmholtz expuso que al aplicar corriente eléctrica sobre el cuero cabelludo, podían generarse sensaciones visuales. Posteriormente, se demostró que este efecto se debía a la estimulación retiniana en lugar de la estimulación cerebral directa (Liu y Cols., 2018).

Aquellas tecnologías que empleaban técnicas de estimulación eléctrica transcraneal no invasivas fueron ampliamente usadas para afectar directamente la actividad cerebral. La terapia electroconvulsiva es un ejemplo de esto. Se introdujo en el área de la psiquiatría alrededor de 1930, usando corrientes menores a 60 mA para desarrollar convulsiones generalizadas. Estudios posteriores de electroanestesia y electrosueño, usaban corrientes subconvulsivas (hasta 40 mA) o corrientes alternas (de 1 a 200 Hz) y de 3 a 10 mA para la inducción del sueño. Sin embargo, estas técnicas declinaron debido a los graves efectos secundarios. En la clínica actual, la estimulación eléctrica transcraneal de alta intensidad es únicamente para neuromonitorización intraoperatoria. Estas primeras aplicaciones para estimulación eléctrica transcraneal de alta intensidad sin embargo, sentaron las bases para experimentos posteriores. Ello sugirió que las corrientes débiles aplicadas al cuero cabelludo también pueden inducir efectos conductuales, pero sin efectos secundarios y sin ser conscientes de la estimulación (Liu y Cols., 2018).

Terney y colaboradores (2008), fueron los primeros en implementar la técnica de estimulación eléctrica transcraneal con ruido en humanos. La estimulación se llevó a cabo con una corriente alterna, en conjunto con amplitudes y frecuencias aleatorias durante 10 minutos en sujetos sanos. Los autores reportaron que la estimulación incrementó significativamente la excitabilidad de la corteza motora primaria M1, manteniéndose por aproximadamente 60 minutos. A su vez, los autores reportaron que los efectos de la estimulación estaban limitados a altas frecuencias. Por lo cual, Terney y Cols. (2008), especularon que la estimulación eléctrica transcraneal con ruido desincroniza los ritmos oscilatorios corticales naturales, por lo que tiende a generar una potenciación en los circuitos.

Más adelante, Fertoni y Cols. (2011) sugirieron que el mecanismo de acción de la estimulación eléctrica transcraneal con ruido puede basarse en las repetidas estimulaciones subumbrales que promueven la excitabilidad del sistema. Esto puede potenciar la actividad de las poblaciones neuronales involucradas en una tarea, por lo que facilitan la transmisión entre neuronas. El mecanismo fisiológico fundamental de los efectos de la estimulación eléctrica transcraneal con ruido, aún no se conoce, se sospecha que pueden ser debido a la apertura de canales de Na^+ o al incremento en la sensibilidad de las redes neuronales a la modulación (Francis y Cols, 2003; Paulus, 2011, Remedios y Cols., 2019). En 1996, Gluckman y colaboradores mostraron que la estimulación eléctrica transcraneal con ruido aplicada directamente a las neuronas del hipocampo en cortes cerebrales de la rata, produjo un aumento en la actividad eléctrica extracelular. De la misma manera, las neuronas piramidales de la corteza cerebral exhiben un aumento en la

amplitud de las corrientes de sodio cuando se adiciona estimulación eléctrica ruidosa (Remedios y Cols., 2019).

1.1.2 Corteza somatosensorial

La corteza somatosensorial se encarga de procesar la información sensorial procedente de cuatro modalidades sensoriales diferentes: tacto, propiocepción, temperatura y dolor (Siegel y Sapru, 2015).

Las señales sensoriales se detectan por receptores sensoriales que se encuentran distribuidos por todo el cuerpo. Los receptores se encargan de transducir las señales sensoriales de los diferentes estímulos detectados en señales eléctricas. Las señales procedentes de las diferentes regiones corporales viajan por los axones de las neuronas localizadas en los ganglios de las raíces dorsales, hasta entrar en el sistema nervioso central, teniendo como blanco principalmente a la corteza somatosensorial primaria (área 3b de Brodmann) (Kandel y Cols., 2013; Siegel y Sapru, 2015).

En los roedores, la corteza somatosensorial de los barriles, es de gran importancia para la percepción y el procesamiento de la entrada de información sensorial proveniente de las vibrisas (bigotes). Estas vibrisas son importantes para la localización y forma de los objetos, e información espacial (Bosman y Cols., 2011). Las vibrisas poseen una representación identificable en la corteza somatosensorial primaria S1, la cual se encuentra en la neocorteza, y abarca las regiones 1, 2 y 3 dentro de la división de Brodmann, figura 4 (Siegel y Sapru, 2015).

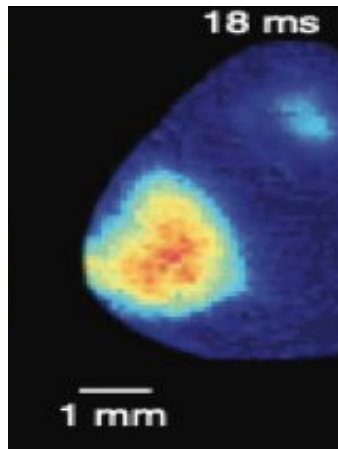


Figura 4. Localización de la corteza somatosensorial de los bigotes del ratón

1.1.2.1 Corteza de los barriles

La corteza de los barriles, se llama así porque las neuronas se organizan en forma parecida a los barriles; es decir, con una zona central de menor densidad celular, de tal manera que existe una relación uno a uno entre cada vibrisa y su respectivo barril, de manera que cada barril representa principalmente a una vibrisa misticial contralateral.

La vía lemniscal se considera la vía primaria somatosensorial, enviando la información de las vibrisas a la corteza de los barriles en 8 ms. La vía paralemniscal es la vía secundaria, ya que no mantiene la misma especificidad al enviar señales de varias vibrisas a las regiones septales entre los barriles, respondiendo con una latencia de 15-20 ms, formando una vía de comunicación interbarril.

La información de la corteza de los barriles es enviada a otras partes de la corteza, así como a áreas subcorticales. La corteza somatosensorial mantiene conexiones recíprocas ipsi- y contralaterales con corteza motora primaria, área somatosensorial secundaria SII y corteza perirrinal. Las conexiones ipsilaterales se originan en las capas III y IV, y se extienden a las capas II, IV y V de la corteza de los barriles adyacente. Las conexiones desde la corteza de los barriles de un lado discurren a través del cuerpo calloso al campo de barriles SII y a la corteza perirrinal del otro lado (Van der Loos y Woolsey, 1973). Las agrupaciones relacionadas con las vibrisas se encuentran en las zonas más laterales de los núcleos del trigémino.

1.1.2.1.1 Organización funcional

Las vibrisas funcionan como detectores altamente sensibles en la percepción de información táctil (Petersen, 2007). Mediante el empleo de éstas, los roedores pueden construir representaciones espaciales de su entorno, localizar objetos y discriminar diferentes texturas. Para este procesamiento de las vibrisas, existe una organización altamente especializada en una región de la corteza somatosensorial primaria, la corteza de los barriles, donde cada bigote está representado por una estructura discreta y bien definida en la capa 4 (Woolsey y Van der Loos, 1970). Los barriles se encuentran acomodados de manera casi idéntica a como se encuentran los bigotes a nivel facial en los roedores.

1.1.2.1.2 Circuitos neuronales

Se han caracterizado los principales circuitos neuronales que envían información relacionada de las vibrisas a la neocorteza. Ante una deflexión en las vibrisas se abren canales iónicos mecanizados de las terminaciones nerviosas de neuronas sensoriales que inervan el folículo piloso. Ello genera un potencial de acción provocado en neuronas sensitivas de la rama infraorbital del nervio trigémino, las cuales producen sinapsis glutamatergicas excitadoras en los núcleos trigémino del tronco encefálico. Las neuronas del núcleo trigeminal principal están organizadas dentro de un arreglo de barreletes dispuestas de manera que cada uno recibe entrada de un solo bigote. Las neuronas del tallo cerebral envían esta información sensorial al Tálamo, al núcleo ventral medial posterior (VPM) donde se presenta otro arreglo somatotípico en unidades denominadas barreloides. Allí, una segunda sinapsis glutamatérgica, las neuronas tálamo corticales, proyectan a la neocorteza somatosensorial primaria en las unidades denominadas barriles, principalmente en la capa 4 y en menor medida a la capa 6. Esta corteza de los barriles, posee una nomenclatura estándar de la relación consistente entre las vibrisas y los barriles (A-E/1,2,3), que se muestra a continuación (Figura 5):

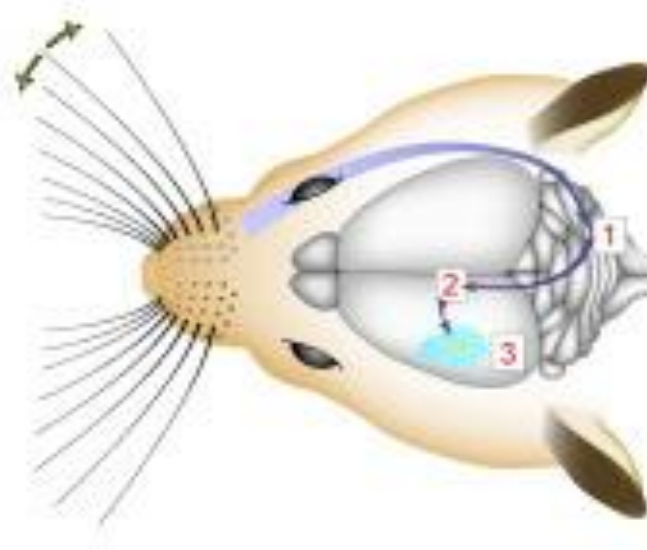


Figura 5. Procesamiento de la información sensorial de las vibrisas a nivel de la corteza de los roedores.

Una vez que la información llega a tálamo, se dirige a corteza a través de dos vías: neuronas que van del núcleo ventral medial posterior (VPM) con información glutamatergica específica de un solo bigote, llegando principalmente a la capa 4 y en menor cantidad a la capa 6, que sirve de retroalimentación al VPM y como segunda vía. Esto es, las neuronas del núcleo talámico posterior (POM) cuyos campos receptivos son más amplios, los axones de estas neuronas se dirigen principalmente a las capas 1 y 5.

Las neuronas en la corteza de los barriles están conectadas recíprocamente a otras áreas corticales a través de sinapsis corticocorticales glutamatérgicas de largo alcance. Las vías más importantes conectan la corteza somatosensorial primaria (S1) con la corteza somatosensorial secundaria (S2) y la corteza motora

primaria (M1) en el mismo hemisferio. Las proyecciones callosas también están presentes pero son menos prominentes.

1.1.3 Receptores sensoriales: Vibrisas

Las vibrisas son “pelos” especializados muy desarrollados en los roedores. Por ejemplo, las ratas, durante la exploración y palpación de objetos ponen en constante movimiento estos órganos sensoriales, que a su vez se encuentran bajo control motor ejecutando movimientos rápidos de barrido rítmico de gran amplitud. Estos movimientos denominados “bigoteo” están coordinados con los de la cabeza y el resto del cuerpo durante la conducta exploratoria para que el animal pueda localizar estímulos de su interés (Simons, 1978; Petersen, 2007). Se ha reportado que al remover estos órganos sensitivos en ratas, éstas presentan problemas en la locomoción, equilibrio y discriminación de superficies, así como notables déficits en el comportamiento (Van der Loos y Woolsey, 1973; Simons, 1978). Pueden identificarse en varias partes del cuerpo, las más estudiadas son las vibrisas misticiales, o también llamadas bigotes que se encuentran en el rostro (Francoise, 2013).

1.1.3.1 Organización de las vibrisas

Las ratas poseen un grupo de vibrisas de mayor longitud denominadas macro vibrisas a cada lado, cuya longitud se encuentra en un rango entre los 15 mm y los

50 mm. Estas, se organizan en una matriz de cinco filas horizontales A, B, C, D, E (nombradas de ventral a dorsal) y entre cinco a nueve columnas numeradas de caudal a rostral (Negredo, 2007; Francoise, 2013). Los primeros en describir esta organización fueron Woolsey y Van der Loos en 1970 (Figura 6).

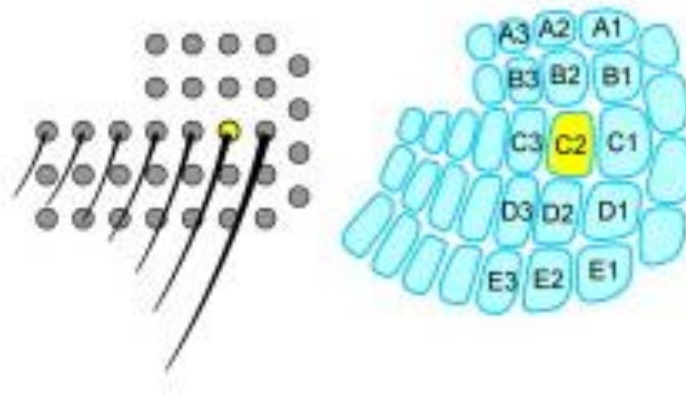


Figura 6. Organización sistemática las vibrisas misticiales con su respectiva representación a nivel de la corteza somatosensorial de vibrisas.

La organización somatotópica de la corteza del barril parece estar determinada principalmente por programas genéticos. El mapa del barril se desarrolla temprano siendo claramente visible a los pocos días de nacer. La lesión de los folículos del bigote dentro de los primeros días después del nacimiento evita la formación de los barriles correspondientes (Van der Loos y Woolsey, 1973, Wong-Riley y Welt, 1980, Iwasato y cols., 2000; Figura 6). La capacidad de cambiar la organización anatómica a gran escala del campo de barriles solo dura unos días después del nacimiento, y para el día posnatal 4, esto ya no es posible. Por lo tanto, hay un período crítico temprano para la formación del mapa anatómico, pero una

gran plasticidad permanece en la corteza del barril durante toda la vida en una escala estructural y funcional más fina. Estos datos sugieren que las neuronas de la corteza del barril reciben información relacionada con su bigote principal al comienzo del desarrollo. Posteriormente, se vuelven más sintonizadas, tal vez reflejando el desarrollo posterior de propiedades de campo receptivo más complejas, relacionadas con experiencias sensoriales más diversas e influencias de arriba hacia abajo.

1.1.3.2 Fisiología de las vibrisas

El movimiento de las vibrisas es transformado por mecanorreceptores ubicados en el folículo piloso de la vibrisa a patrones espaciotemporales de potenciales de acción que a su vez siguen la rama infraorbitaria del nervio trigémino. Cada folículo está innervado por alrededor de 250 nervios superficiales y profundos. Esta amplia diversidad de terminaciones nerviosas puede asociarse a los diferentes tipos de información sensorial detectados por las vibrisas (Petersen, 2007).

El nervio trigémino se divide en tres ramas (oftálmica, maxilar y mandibular), la rama maxilar inerva las macrovibrisas por el nervio infraorbitario, su núcleo al igual que la mayoría de las aferentes se encuentra en el ganglio trigémino, las neuronas del ganglio son pseudomonopolares que se clasifican en dos tipos: **A** caracterizadas por ser grandes y con prolongaciones mielinizadas grandes y medianas y **B** que son pequeñas con prolongaciones finamente mielinizadas o

amielinicas. La información somatosensorial pasa del ganglio trigémino al complejo sensitivo trigeminal del tronco ipsilateral. Este, es una columna de células extendida a lo largo de la porción lateral del tronco del encéfalo (desde el puente hasta confundirse con la asta dorsal de la médula cervical), está dividido en tres núcleos principales: mesencefálico (Me5), sensorial principal (Pr5), trigeminal espinal (Sp5). Este último se subdivide en oral (Sp5O), interpolar (Sp5I) y caudal (Sp5C). El complejo trigeminal también se encuentran el núcleo motor (Mo5), el supratrigeminal (Su5), el intertrigeminal y el paratrigeminal (Negredo, 2007).

La raíz del nervio trigémino se bifurca en una rama ascendente y otra descendente, las cuales inervan respectivamente, a Pr5, y los subnúcleos espinales. La información sensorial proveniente de las vibrisas termina en zonas topológicamente organizadas del núcleo. Estos agregados histológicos celulares en el núcleo sensorial principal (Pr5) son denominados barriletes, y las neuronas que forman cada barrilete responden sólo a una vibrisa principal (Negredo, 2007). Estos barriletes se pueden observar en los núcleos Pr5, Sp5I y Sp5C en la rata adulta.

La información sensorial de las vibrisas se transmite por los axones de las neuronas sensoriales del complejo trigeminal del tronco, que se decusan y proyectan al tálamo contralateral, al núcleo ventral posteromedial (VPm) y a la porción medial del núcleo talámico posterior (POm). Las proyecciones trigémino-talámicas terminan en agregados celulares relacionados con las vibrisas llamados barriloides. Desde el complejo trigeminal del tronco salen dos vías ascendentes que van hacia el tálamo contralateral que se diferencian por la distribución de sus fibras:

1. La vía lemniscal, que va desde el núcleo principal a la zona de barriloides del núcleo ventral posteromedial (VPm) del tálamo, terminando en la zona granular de la corteza de los barriles (capa IV y parte profunda de la capa III de la corteza somatosensorial).
2. La vía paralemniscal que lleva la información sensorial desde el subnúcleo interpolar al núcleo posterior (POm) del tálamo contralateral, terminando en la zona disgranular del campo de barriles de la corteza. En animales anestesiados, es poco probable que esta vía paralemniscal contribuya fuertemente al procesamiento sensorial ya que una inhibición rápida de GABAérgica de la zona incerta silencia el núcleo POM (Lavallée y Cols., 2005) Sin embargo, esta inhibición depende del estado cerebral (Trageser y Cols., 2006) y, además, POM recibe una fuerte entrada excitadora cortical (Diamond y Col., 1992) Por lo tanto, la vía paralemniscal puede desempeñar papeles importantes durante la exploración activa, quizás contribuyendo a la coordinación sensoriomotora.

Los axones talámicos crean sinapsis en una diversidad de dendritas en el barril de la capa 4. Los elementos dendríticos más importantes son proporcionados por las neuronas excitadoras e inhibitoras de la capa 4. Las neuronas excitadoras de la capa 4 tienen arborizaciones dendríticas y axonales confinados lateralmente solo a la capa de 4 de la corteza de barriles y la entrada talámica que llega solamente a la capa de 4. Por lo tanto, dicha entrada permanece en gran medida confinada a ese barril para el paso inicial del procesamiento cortical. La capa excitadora 4, inerva prominentemente la capa 2/3 en el área inmediatamente superior, definiendo

estructuralmente una columna cortical delimitada lateralmente por el ancho del barril de la capa 4. Un estímulo administrado en un barril de capa 4 primero causa despolarización dentro del barril de capa 4, que luego en los milisegundos posteriores se extiende para despolarizar las neuronas en la capa 2/3 de una manera estrictamente columnar. Por lo tanto, tanto anatómica como funcionalmente, existe una fuerte evidencia de columnas corticales definidas por la extensión horizontal de los barriles de la capa 4. (A) Reconstrucciones superpuestas de dendritas y axones de muchas neuronas excitadoras en la capa 4 y la capa 2/3 de la corteza del barril. Las dendritas (negras) de la capa 4 glutamatérgica espinosa estrellada y las neuronas piramidales se limitan en gran medida al barril de origen. Los axones (verdes) de las neuronas de la capa 4 excitadora están restringidos lateralmente al ancho del barril de origen, pero se proyectan fuertemente tanto en la capa 4 como en la capa 2/3. Por lo tanto, los axones de las neuronas de la capa 4 definen anatómicamente una columna cortical. Las dendritas (rojas) de las neuronas piramidales de la capa 2/3 no se extienden muy lejos de la columna del barril, pero los axones de la capa 2/3 proyectan largas distancias lateralmente (azul). Por lo tanto, es probable que los potenciales de acción en las neuronas piramidales de la capa 2/3 contribuyan a la propagación de las respuestas sensoriales observadas in vivo.

1.2 Antecedentes específicos

1.2.1 Resonancia estocástica en sistemas sensoriales

Medina y Colaboradores en 2012, demostraron por primera vez la eficacia de ruido en la mejora de la percepción sensorial, ya que los autores observaron que al aplicar ruido eléctrico moderado a la corteza somatosensorial primaria (S1), la sensación táctil artificial producida por la microestimulación intracortical en monos rhesus mejoraba. Por lo tanto, Medina y cols. 2012, sugirieron que el ruido eléctrico aplicado a la corteza somatosensorial podría emplearse para mejorar la percepción táctil.

Posteriormente, en 2017, Huidobro y colaboradores estudiaron si la exposición directa de luz ruidosa en las neuronas piramidales de la corteza de los barriles del ratón, que expresa un canal de channelrhodopsina-2 (ChR2), puede producir facilitación en potenciales de campo provocados somatosensoriales. Los autores emplearon ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP anestesiados, los cuales fueron expuestos a fotoestimulación de ruido optogenético Browniano. Huidobro y cols., 2017, reportaron que el ruido optogenético Browniano aplicado directamente en la corteza de los barriles modula la relación señal/ruido en la amplitud de los potenciales de campo provocados de los bigotes. Por lo cual, los resultados de este artículo muestran que la aplicación de una intensidad intermedia de ruido optogenético Browniano en la corteza de barriles de ratones transgénicos ChR2 amplifica la relación señal-ruido de los potenciales provocados somatosensoriales de los bigotes.

Continuando con esta línea de investigación, Huidobro y colaboradores (2018), estudiaron los efectos de la fotoestimulación de ruido optogenético en la

corteza de los barriles de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP anestesiados. Observaron que la respuesta neuronal de actividad multiunitaria provocada por la estimulación mecánica de bigotes aumentaba. A su vez, reportaron simulaciones numéricas de un modelo de neurona que expresa ChR2, las cuales apoyan cualitativamente los datos experimentales. Por lo cual, los autores sugieren que la estimulación optogenética ruidosa en la corteza cerebral de los barriles de los ratones Thy1-ChR2-YFP podría producir mejoras en la percepción somatosensorial dada por la estimulación de los bigotes.

El estudio de los efectos del ruido a nivel sensorial también se han estudiado en preparaciones in vitro. Remedios y colaboradores (2019) estudiaron por primera vez los efectos de la estimulación eléctrica ruidosa a corto plazo (250 ms) en neuronas piramidales cerebrales aisladas de forma aguda in vitro de la corteza cerebral somatosensorial y auditiva. Los autores analizaron la correlación entre la amplitud máxima de la corriente de Na^+ y su latencia para diferentes niveles de estimulación eléctrica ruidosa y encontraron tres grupos de neuronas. En el primer grupo, tanto la amplitud máxima de una corriente de Na^+ sensible a TTX como su inversa de latencia siguieron funciones similares a U invertida en relación con el nivel de estimulación eléctrica ruidosa eléctrico. En este grupo, los niveles de estimulación eléctrica ruidosa en los que ocurrieron los valores máximos de las funciones similares a U invertidas fueron los mismos. En el segundo grupo, los valores máximos de las funciones similares a U invertidas ocurrieron en diferentes niveles. En el tercer grupo, solo la amplitud máxima de la corriente de Na^+ exhibió una clara función similar a la U invertida, pero la inversa de la latencia frente a la

estimulación eléctrica ruidosa, no exhibió una clara función similar a la U invertida. Sus resultados revelaron que el comportamiento observado en la corriente de Na^+ podría deberse al impacto de la estimulación eléctrica ruidosa en la cinética de activación e inactivación de los canales de Na^+ .

Recientemente Mabil y Cols. (2020), realizaron una serie de experimentos, similares a los llevados a cabo por Remedios y cols., 2019, para examinar si la fotoestimulación de ruido optogenético browniano aumentaba la amplitud de la corriente de Na^+ provocada por rampas de fijación de voltaje de neuronas piramidales disociadas de la corteza somatosensorial de ratones transgénicos (Thy1-ChR2-YFP) y de tipo salvaje (ChR2). Los autores encontraron que en todas las neuronas de los ratones transgénicos, pero en ninguna de los ratones de tipo salvaje, la amplitud máxima de una corriente de Na^+ sensible a TTX y su latencia inversa mostraban gráficos en forma de U invertida en función del nivel de estimulación ruidosa optogenética. Según los autores, esto significó que un nivel intermedio de estimulación ruidosa optogenética aumenta tanto la amplitud máxima de la corriente de Na^+ como su inversa de latencia. Por lo cual, Mabil y colaboradores sugirieron que el impacto de la estimulación ruidosa optogenética en los canales de Na^+ de las neuronas piramidales, podría estar asociado con los efectos de aumento observados en otros trabajos del mismo laboratorio.

1.2.2 Electrocorticografía usando estimulación eléctrica ruidosa sobre la corteza cerebral en sistemas vivos

Terney y colaboradores (2008) describieron que la estimulación eléctrica con ruido aleatorio de alta frecuencia (tetánica) durante 10 minutos, sobre el cuero cabelludo cercano a la corteza motora, produce un aumento en la amplitud de los potenciales provocados motores, los cuales pueden mantenerse amplificados hasta por una hora. Este hallazgo en el sistema motriz se observó recientemente en el sistema somatosensorial de la rata.

En 2020, Lizarraga (tesis de maestría) analizó los efectos de la aplicación de la estimulación eléctrica ruidosa sobre la amplitud de los potenciales provocados somatosensoriales. Se les aplicó la estimulación eléctrica ruidosa en la corteza somatosensorial de los barriles con ruido aleatorio de alta frecuencia en el rango de 101-640 Hz, durante 10 minutos y con 0.3 mA. En los experimentos llevados a cabo por Lizarraga, se encontró que la estimulación eléctrica ruidosa aplicada sobre la corteza de los barriles, produce un incremento significativo de los potenciales provocados somatosensoriales producidos por estimulación mecánica, que pueden mantenerse incrementados hasta por 5 horas posterior a la estimulación. Estos resultados generaron interés para la interpretación del uso de la estimulación eléctrica ruidosa de tipo tetánico en la clínica médica y para más avances en el estudio de mecanismos fisiológicos, como en la presente tesis.

2. Justificación

Aunque el ruido puede verse como un problema en la transmisión de información, también puede ser una solución a problemas de procesamiento de la misma. Se conoce que el ruido da forma a la estructura y función del sistema nervioso y también participa en los sistemas sensoriales y el sistema motor.

En los últimos años, en el ámbito de la neurociencia, el interés del papel funcional del ruido ha tomado relevancia para ayudar a explicar el funcionamiento de los sistemas neuronales (Krauss et al., 2017).

El sistema somatosensorial es un modelo atractivo para investigar los efectos de la estimulación eléctrica ruidosa. Es por ello, que la presente tesis tiene como finalidad estudiar dicho papel en el contexto de la actividad multiunitaria de las neuronas de la corteza de los barriles. Los hallazgos que se obtengan serán de importancia para continuar con protocolos experimentales más detallados, que permitan estudiar los mecanismos que explican los efectos del ruido eléctrico en el cerebro sobre la sensación y la percepción sensorial.

3. Planteamiento del problema

La estimulación eléctrica transcraneal ruidosa se emplea de manera rutinaria en la clínica médica para tratar diversos desordenes neuropsiquiátricos. Sin embargo, poco se conoce de sus mecanismos fisiológicos. En un trabajo previo,

encontramos que 10 minutos de estimulación eléctrica ruidosa sobre la corteza somatosensorial de los barriles de la rata, produce un incremento en la amplitud de los potenciales provocados por estimulación mecánica de las vibrisas. Ello sugiere, que este incremento ocurre por un reclutamiento de neuronas de dicha región cortical, como consecuencia de un posible aumento en la excitabilidad neuronal. Para probar esta hipótesis, en la presente tesis hemos registrado la actividad eléctrica multiunitaria en el mismo modelo animal, con un sistema de multielectrodos Minimatrix de 5 canales.

4. Hipótesis científica

10 minutos de estimulación eléctrica ruidosa sobre la corteza somatosensorial de los barriles de la rata, produce un incremento en el área bajo la curva de la actividad multiunitaria (rectificada e integrada) que se produce por estimulación mecánica de las vibrisas.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Examinar los efectos del ruido eléctrico aplicado en la corteza de los barriles de la rata sobre la actividad multiunitaria (rectificada e integrada) que se produce por estimulación mecánica de las vibrisas.

5.2 Objetivos específicos

- 1) Registrar la actividad multiunitaria de neuronas de la corteza de los barriles en la rata anestesiada, en respuesta a la estimulación mecánica de las vibrisas.
- 2) Registrar la actividad eléctrica de neuronas, como en el objetivo 1, después de 10 minutos de estimulación eléctrica ruidosa en la zona cortical de los barriles. Ello con la finalidad de examinar los cambios que se producen en dicha actividad neuronal multiunitaria, como consecuencia de la aplicación del ruido eléctrico sostenido aplicado en la corteza.

6. Material y métodos

6.1 Selección de la muestra

Los experimentos fueron realizados en ratas wistar adultas (300 gr. aproximadamente) sin distinción de sexo, proporcionadas por el Bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla bajo el proyecto 4320.

6.2 Aclaraciones bioéticas

Todos los experimentos cumplieron con los lineamientos para el cuidado y uso de animales de laboratorio estipulados en la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999 y aprobados por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL-Proyecto-04320).

6.3 Técnicas y procedimientos

6.3.1 Preparación quirúrgica

Los sujetos de experimentación fueron anestesiados con una mezcla de Xilazina (10 mg/kg), Acepromazina (1.5 mg/kg) y Ketamina (70 mg/kg) administrada a través de la vía intraperitoneal. El efecto de la anestesia se corroboró a través del reflejo palpebral, del reflejo de retirada generado en las extremidades posteriores y el electrocardiograma.

Antes del procedimiento quirúrgico, administramos atropina (0.05 mg/kg, s.c.) para el control excesivo de la salivación y secreción bronquial, y dexametasona (2 mg/ kg, i.v.) para reducir el edema cerebral.

Una vez anestesiado el sujeto experimental, se le colocó una cánula intraperitonealmente, por donde se le administraron dosis de refuerzo a un 40 % de la dosis inicial cada 70 ± 10 minutos, de acuerdo al efecto dosis-respuesta del sujeto experimental y a los reflejos previamente descritos.

Posteriormente, realizamos una traqueotomía para mantener la vía aérea permeable y proporcionar ventilación asistida en caso de ser necesaria.

Con la finalidad de tener un control sobre el nivel de anestesia después de la estimulación eléctrica ruidosa de 10 minutos, en todos los animales siempre administramos anestesia al inicio de dicha estimulación ruidosa.

6.3.2 Procedimiento quirúrgico

Se fijó el sujeto experimental en un aparato estereotáxico (Narishige, Tokio, Japón), para realizar la craneotomía en la región parietal izquierda y derecha con el fin de exponer la corteza somatosensorial primaria. En la corteza somatosensorial primaria, registramos la actividad multiunitaria desencadenada por la retracción de las vibrisas a través de un estímulo mecánico. A su vez, aplicamos la estimulación eléctrica ruidosa en la misma región cortical, con el fin de evaluar los cambios provocados en la actividad multiunitaria como consecuencia de dicha estimulación ruidosa.

6.3.3 Protocolo de estimulación mecánica y eléctrica.

El estiramiento de las vibrisas de la rata se realizó por medio de un estimulador mecánico. El estiramiento de las vibrisas de la rata consistió en pulsos protráctiles de 5 ms y 1 Hz. Se aplicaron pulsos protráctiles con 5 intensidades diferentes, las cuales fueron ejecutadas de forma aleatoria, y se seleccionó la intensidad efectiva para desencadenar un potencial provocado somatosensorial.

La estimulación eléctrica ruidosa de 10 minutos se aplicó a una alta frecuencia (101-640 Hz) con el estimulador “Neuroconn DC Stimulator plus”, con una corriente de 300 mA (Figura 7). Dicho estimulador es para uso en humanos, pero lo adaptamos al cerebro de la rata.

6.3.3 Protocolo de registro

El registro multiunitario se llevó a cabo en las profundidades de la corteza somatosensorial correspondiente a las vibrisas de la rata. Para el registro, empleamos microelectrodos de fibra de cuarzo platino tungsteno (1-2 M Ω) acoplados a un sistema de multielectrodos de 5 canales Minimatrix (Thomas Recording). La señal fue adquirida por un sistema digitalizador “Digidata system” (Molecular Devices) a una frecuencia de muestreo de 250 kHz (Figura 7).

El periodo de registro consistió en 15-20 minutos de registro de los potenciales provocados por estimulación mecánica (control), seguidos por 10 minutos de estimulación eléctrica ruidosa sobre la corteza de los barriles (sin registro multiunitario). Al término de la estimulación eléctrica, inmediatamente después, retomamos los registros de los potenciales provocados por estimulación mecánica de las vibrisas, por un tiempo aproximado de 2 horas.

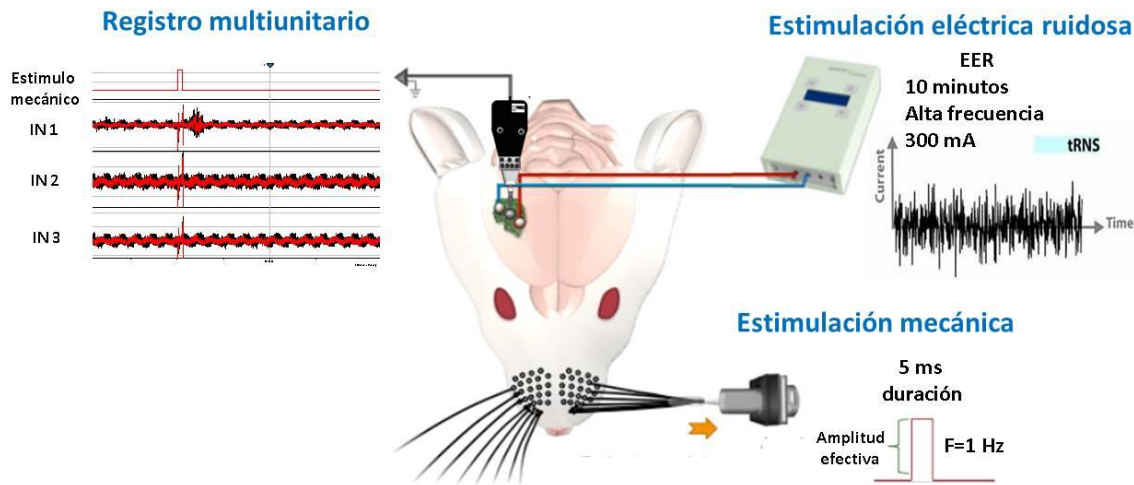


Figura 7. Montaje experimental.

6.3.4 Método de eutanasia

Finalmente, las ratas, al ser sometidas a una preparación de naturaleza invasiva no reversible, fueron sacrificadas según los lineamientos vigentes de procedimientos de manipulación de modelos experimentales en el laboratorio mediante una sobredosis de Pentobarbital sódico (dosis mayor a 4 ml/kg).

6.4 Análisis de los datos

Después de cada experimento, utilizamos un programa realizado en Matlab para determinar la envolvente de la actividad de cada uno de los registros multiunitarios obtenidos. Se obtuvieron las áreas bajo la curva de los registros multiunitarios rectificados e integrados pre y post estimulación eléctrica, las cuales fueron comparadas para determinar los efectos de la estimulación eléctrica ruidosa.

6.5 Pruebas estadísticas

Para determinar la normalidad de los datos, realizamos la prueba de Shapiro-Wilk. Cuando los datos resultaron normales ($p > 0.05$), los sometimos a una prueba t de Student, pero cuando no fueron normales ($p < 0.05$) los sometimos a la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney test. Este análisis lo realizamos con el objetivo de determinar si existen diferencias estadísticamente significativas en los resultados obtenidos del área bajo la curva de la actividad multiunitaria, resultante de los potenciales provocados mecánicamente, previo a la estimulación eléctrica ruidosa versus la actividad multiunitaria posterior a la estimulación eléctrica ruidosa en la corteza de los barriles.

6.6 Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de inclusión fueron que los registros se mantuvieran estables durante el periodo pre-estimulación y que los animales mantuvieran un nivel de anestesia bien controlado, con una actividad electrocardiográfica estable. Los criterios de exclusión fueron, eliminar los experimentos en los que el animal exhibiera artefactos de movimiento, o que exhibiera una depresión sostenida en la actividad unitaria después de la administración de anestesia.

7. Resultados

Los resultados de nuestro protocolo estuvieron dominados por un incremento en la amplitud de los potenciales multiunitarios provocados por la proyección mecánica de las vibras después de estimular la región cortical de los barriles.

Al inicio de nuestros experimentos, realizamos una curva de estimulaciones con diferentes amplitudes del estímulo mecánico. Esto, con el objetivo de determinar el nivel de estimulación necesario para inducir un potencial provocado somatosensorial de mayor amplitud. Cuando determinamos el potencial efectivo, iniciamos nuestro periodo de registro control; es decir, de registros previos a la estimulación eléctrica ruidosa en la corteza de los barriles.

Previo a la estimulación eléctrica ruidosa en la corteza de los barriles, observamos y registramos los potenciales provocados por estimulación mecánica de las vibras. En todos nuestros registros, los potenciales se presentaban inmediatamente después de la estimulación mecánica, aproximadamente 13 ± 3 ms después del impulso mecánico, y finalizando aproximadamente 31 ± 4 ms después del impulso mecánico; es decir, mantenían una duración promedio de 17 ms (Figura 8A).

Después de obtener los registros control, procedimos a estimular eléctricamente durante 10 minutos la región de la corteza de las vibras que estaba siendo registrada. Pasado este tiempo reanudamos los registros.

Los potenciales provocados registrados, posterior a la estimulación eléctrica, exhibieron una latencia de inicio post-estímulo mecánico de 11.5 ± 1.3 ms y finalizaron con 33 ± 2.9 ms post-estímulo mecánico. A su vez, la actividad multiunitaria mostró un incremento de la actividad asociado a la estimulación eléctrica ruidosa (Figura 8B).

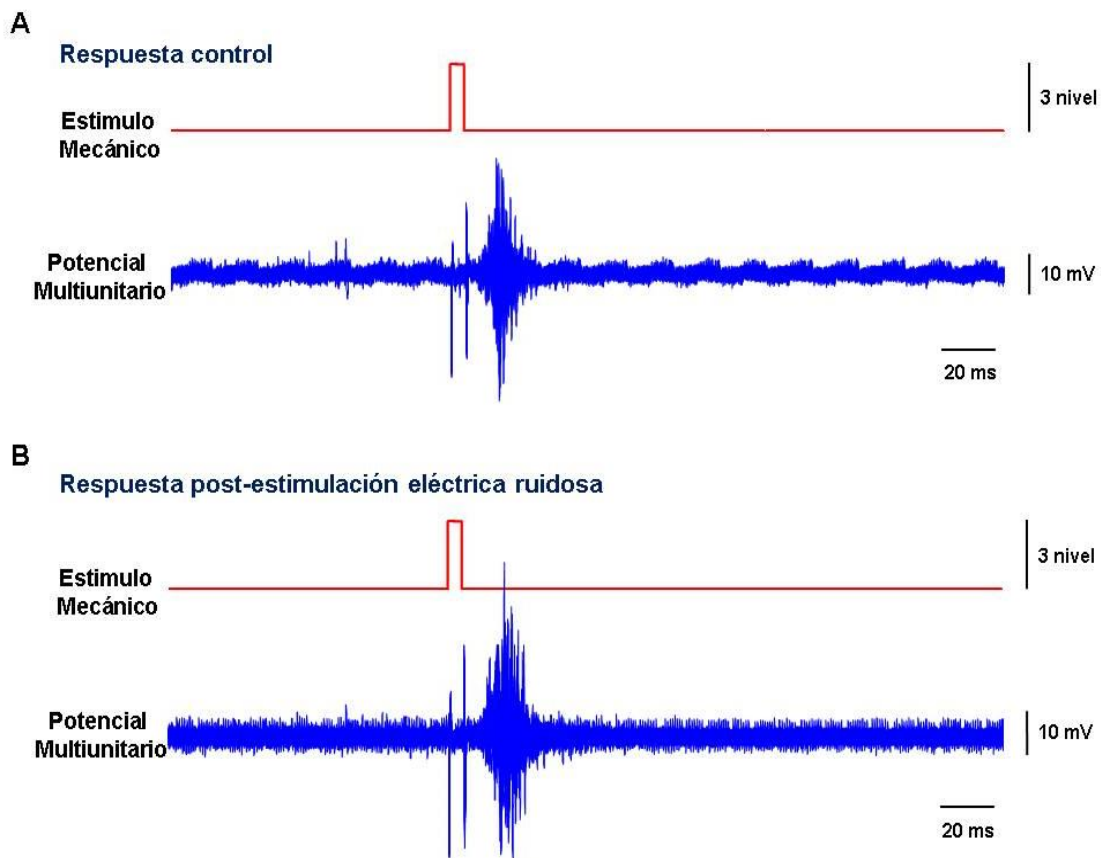


Figura 8. Registros representativos. A, trazo obtenido previo a la estimulación eléctrica ruidosa de la corteza de los barriles. B, trazo obtenido posterior a dicha estimulación.

De los registros obtenidos durante los protocolos experimentales, tanto previos, como posteriores a la estimulación, calculamos el área bajo la curva mediante un código de programación en Matlab. En primer lugar, separamos cada uno de los eventos (“sweeps”, Figura 9A) obtenidos para calcular el área de forma individual. Posteriormente, determinamos el absoluto de los datos por evento, de los cuales, calculamos al área de la actividad multiunitaria rectificadas e integradas, asociada al estímulo mecánico de las vibrisas. La región de análisis está enmarcada en un recuadro en rojo en la figura 9B.

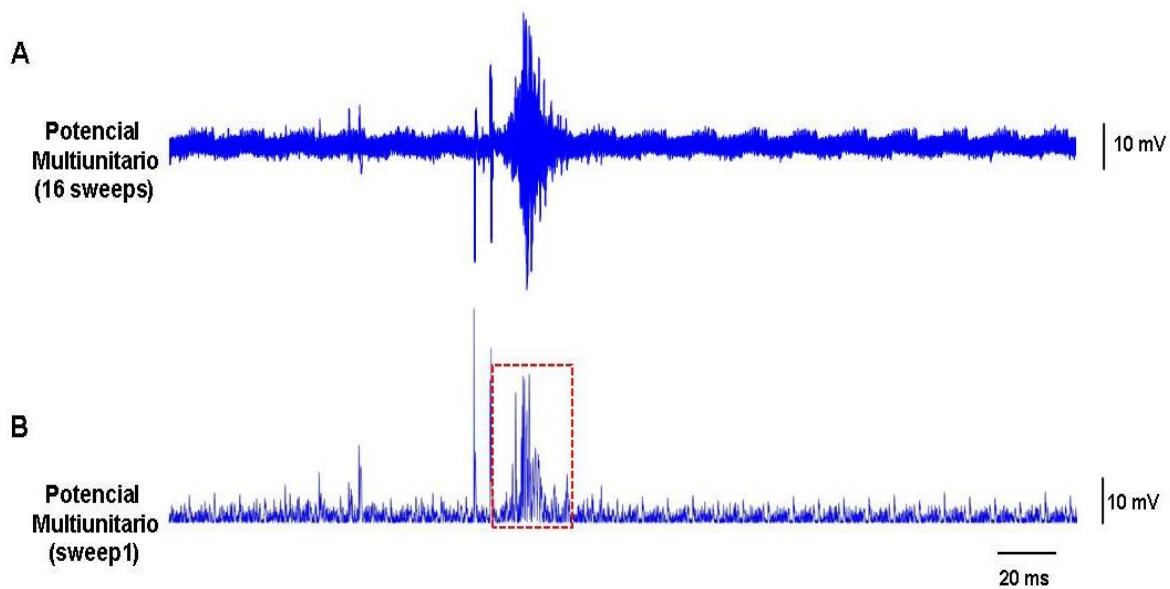
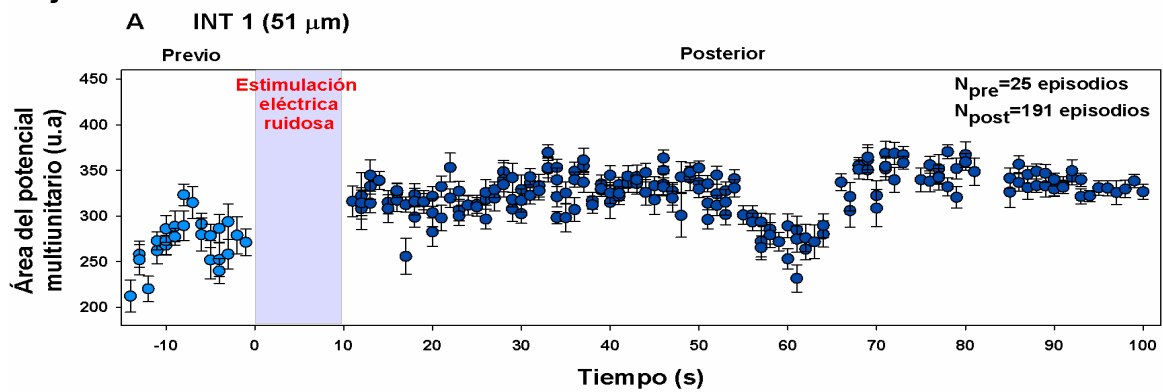


Figura 9. Protocolo de análisis. A, conjunto de eventos obtenidos por corrida. B, evento seleccionado del conjunto de eventos por corrida.

Los cálculos realizados del área de los eventos, arrojaron los resultados que se muestran de las figuras 10 a la 13. En la figura 10, mostramos los

resultados obtenidos de los sujetos de experimentación 1 y 2. En esas figuras, se muestra el cambio del área con relación al tiempo. En el sujeto 1 (Figura 10A), el área de los potenciales provocados multiunitarios previo a la estimulación eléctrica ruidosa fue de 271.2 ± 25.3 u.a (unidades arbitrarias). Sin embargo, posterior a la estimulación, el área exhibida fue de 325.8914 ± 24.4 u.a. La diferencia de los valores medios entre los dos grupos fue grande, por lo cual al aplicar la prueba de Mann-Whitney test se determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.001$; Figura 14A). Como podemos observar en la figura 10A, al minuto 50 (equivalente al minuto 60 en la figura), posterior a la estimulación eléctrica ruidosa, se presentó un decremento en el área provocado por una administración de anestesia mediante vía intraperitoneal. Unos minutos después la actividad se restableció.

Sujeto 1



Sujeto 2

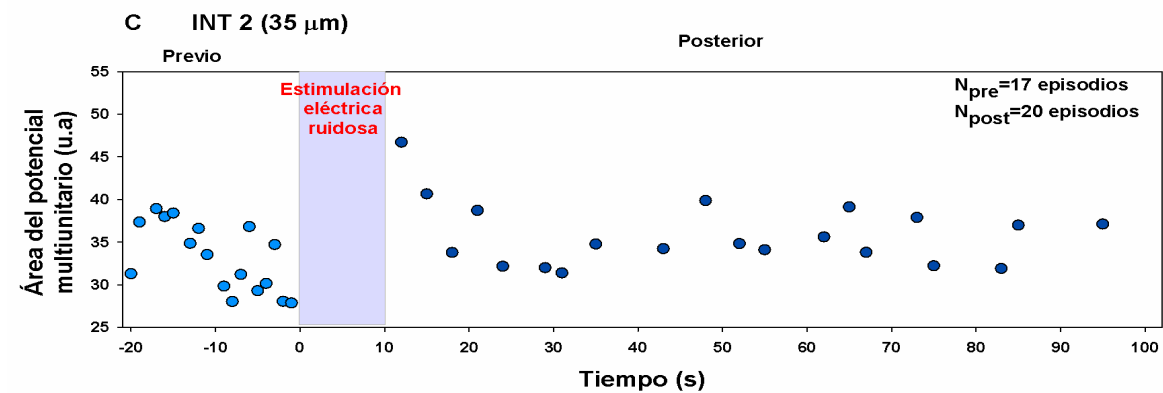
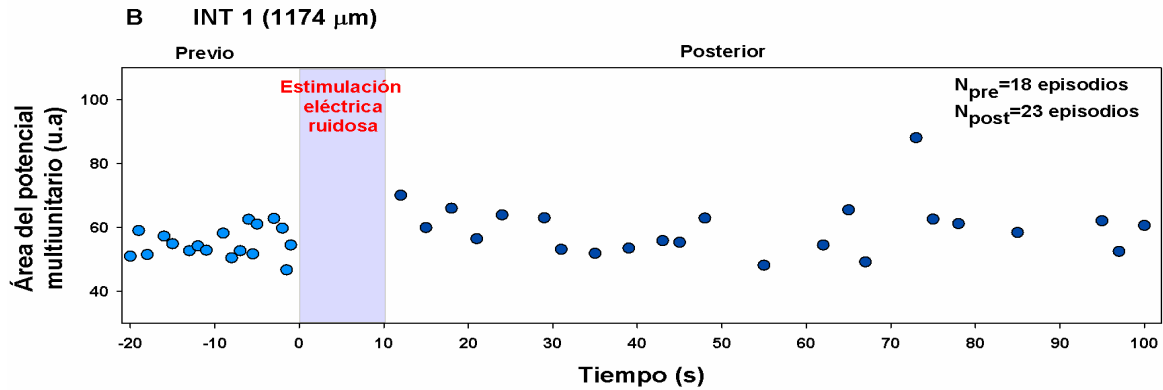


Figura 10. Resultados del área de los potenciales provocados somatosensoriales de registros multiunitarios. A, resultados correspondientes al sujeto 1. B-C, resultados correspondientes al sujeto 2.

Para la obtención de resultados del sujeto 2, realizamos el mismo procedimiento de análisis de datos. En las figuras correspondientes a los resultados del sujeto 2 (Figura 10B-C), se muestra el cambio del área con relación al tiempo, determinada por los periodos previo y posterior a la estimulación eléctrica ruidosa. En la figura 10B, mostramos los resultados obtenidos a una profundidad de 1174 μm , mientras que los representados en la figura 10C, fueron obtenidos superficialmente a 35 μm . El área de los

potenciales provocados multiunitarios obtenidos profundamente (Figura 10B), previo a la estimulación eléctrica ruidosa fue de 55.2 ± 4.5 u.a, y posterior a dicha estimulación, el área exhibida fue de 58.8 ± 8.4 u.a. Para determinar si existía una diferencia aplicamos la prueba de Mann-Whitney test, la cual nos arrojó que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($P = 0.03$; Figura 14B). Para los datos obtenidos de registros superficiales (Figura 10C), la media del área de los potenciales provocados multiunitarios previo a la estimulación fue de 33.2 ± 4 u.a, y posterior a dicha estimulación, el área exhibida fue de 35.8 ± 3.8 u.a. Al aplicar la prueba t de Student determinamos que la diferencia entre ambas medias fue estadísticamente significativa ($P = 0.04$; figura 14C).

Los resultados del área de los potenciales provocados multiunitarios exhibidos en el sujeto 3 se presentan en la figura 11. Los registros multiunitarios se llevaron a cabo en tres regiones y con variación de las profundidades. Los registros llevados a cabo en la región anterior de la corteza de vibrisas y a una profundidad de $774 \mu\text{m}$, se muestran en la figura 11A. De estos registros, obtuvimos los siguientes resultados: la media de los potenciales provocados multiunitarios previos a la estimulación eléctrica aleatoria ruidosa fue de 40.6 ± 3 u.a., y la media del área de los potenciales posterior a la estimulación fue de 43.6 ± 2.8 u.a. La diferencia de los valores medios entre los dos grupos fue grande, por lo cual al aplicar la prueba t de Student se determinó que también existe una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.004$; Figura 14D).

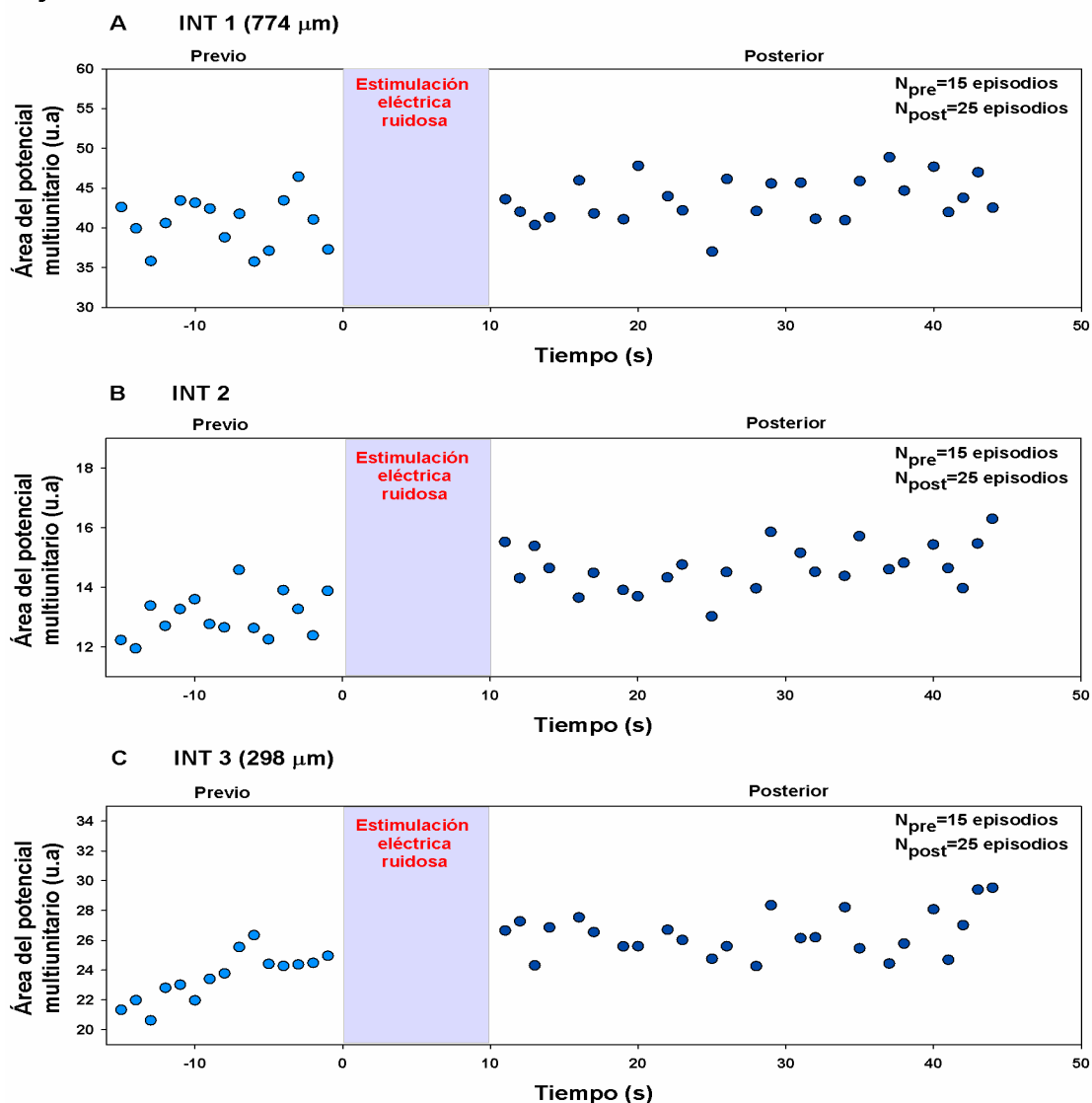
Sujeto 3

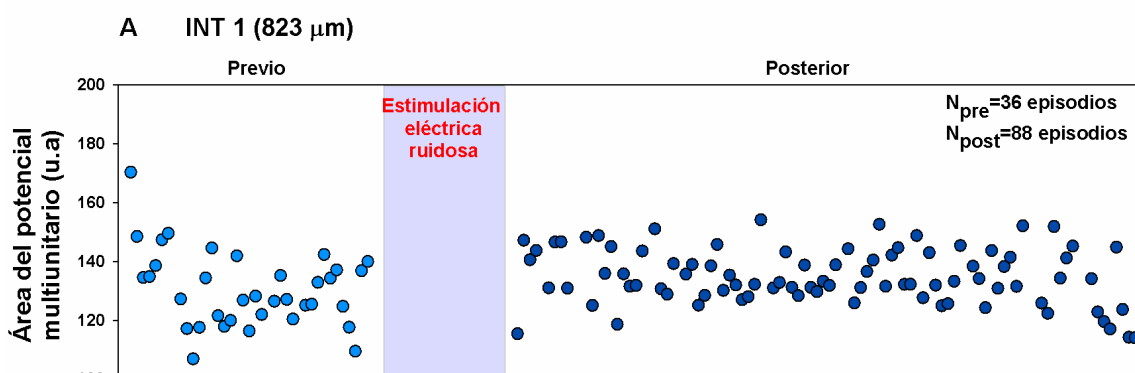
Figura 11. Resultados obtenidos del sujeto de experimentación 3.

A su vez, realizamos el registro de la parte medial de la corteza de las vibrisas, y los datos los mostramos en la figura 11B. Para esta región, los análisis determinaron que el área de los potenciales provocados multiunitarios obtenidos previo a la estimulación eléctrica ruidosa fue de 13 ± 0.7 u.a, y posterior a la estimulación ruidosa, el área exhibida fue de 14.7 ± 0.8 u.a. Como

podemos observar en la figura 11B, el aumento en la actividad se mantuvo durante todo el registro post-estimulación, aproximadamente durante 40 minutos. Para determinar si existe una diferencia, aplicamos la prueba t de Student, la cual nos arrojó que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($P = 0.001$; Figura 14E). En la región posterior de la corteza de vibrisas llevamos a cabo el registro a una profundidad de 298 μm (Figura 11C). A partir de estos registros realizamos el análisis de área, al igual que en los sujetos anteriores, y determinamos que la media del área de los potenciales provocados multiunitarios evaluados previo a la estimulación eléctrica ruidosa dicha media fue de 23.6 ± 1.6 u.a, y posterior a la estimulación eléctrica ruidosa la media exhibida fue de 26.4 ± 1.5 u.a. Los datos pasaron la prueba de normalidad, por lo cual aplicamos la prueba t de Student que nos determinó que la diferencia entre ambas medias era grande, por lo que existió una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.001$; Figura 14F).

En la figura 12, mostramos los resultados de los resultados obtenidos de los registros llevados a cabo en el sujeto 4, en tres regiones con profundidades diferentes. Los registros en la región anterior fueron llevados a cabo a una profundidad de 823 μm , en la región media, a una profundidad de 306 μm y en la región posterior, a una profundidad de 324 μm .

Sujeto 4



Los resultados de los registros multiunitarios obtenidos en la región anterior de la corteza de vibrisas se muestran en la figura 12A. Al llevar a cabo el cálculo del área de los potenciales provocados por estimulación mecánica previo a la aplicación del protocolo de estimulación eléctrica aleatoria ruidosa obtuvimos que la media fue de 130.6 ± 12.8 u.a, y posterior a la aplicación del

protocolo de estimulación, la media fue de 134.9 ± 9.3 u.a. La diferencia de los valores medios entre los dos grupos fue grande, por lo cual se aplicó la prueba t de Student, que determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.036$; Figura 14G).

Los registros multiunitarios llevados a cabo en la región media de la corteza arrojaron los siguientes resultados (Figura 12b): la media de los datos obtenidos del cálculo del área de los potenciales provocados mecánicamente previo a la estimulación eléctrica fue de 36.9 ± 2.7 u.a, y la media posterior a la aplicación de la estimulación fue de 40.5 ± 3.69 u.a. Al aplicar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, los datos indicaron no ser normales, por lo que aplicamos la prueba de Mann-Whitney, que nos indicó que la diferencia entre ambas medias era grande, indicando un cambio estadísticamente significativo ($P = 0.001$; Figura 14H). Como podemos observar en la figura 12b aproximadamente 35 minutos posterior a la estimulación, los registros mostraron una interferencia que nos impidió continuar con el registro en dicho canal, por lo cual concluimos el registro en esta región a ese tiempo.

Los resultados de los registros multiunitarios recabados en la región posterior de la corteza de las vibrisas se muestran en la figura 12C. El área de los potenciales provocados multiunitarios obtenidos, previo a la estimulación eléctrica ruidosa fue de 71.4 ± 5.3 u.a, y posterior a la estimulación ruidosa, el

área exhibida fue de 77.8 ± 4.4 u.a. Para determinar si existía una diferencia aplicamos la prueba de Mann-Whitney, la cual nos

arrojó que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($P = 0.001$; Figura 14I). Cabe mencionar, que solo fue posible registrar

Sujeto 5

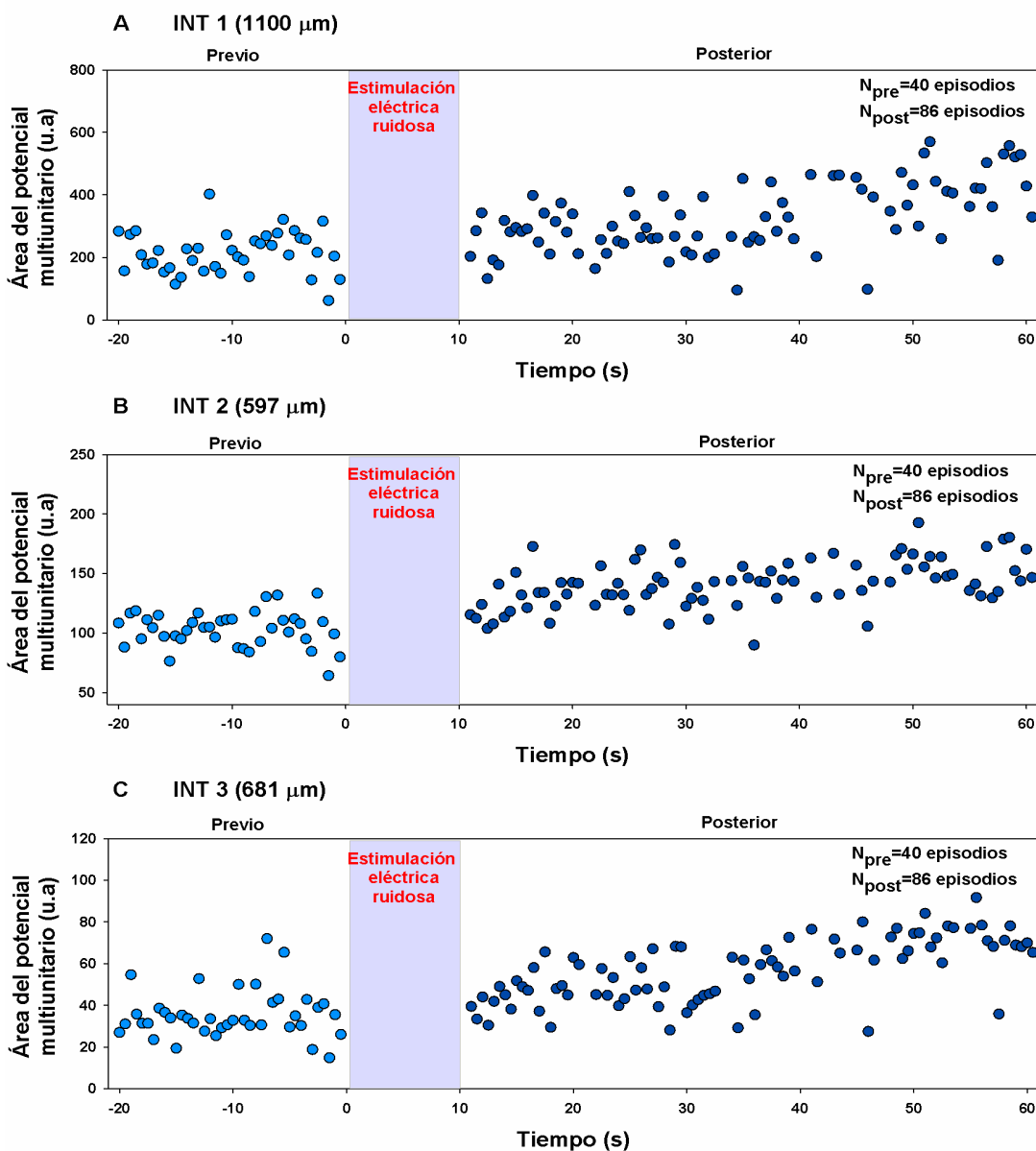


Figura 13. Resultados obtenidos del sujeto de experimentación 5.

con este canal durante 35 minutos, ya que la señal exhibió una interferencia que nos impidió continuar el registro por más tiempo, a diferencia del canal correspondiente a la región anterior.

En la figura 13, mostramos los resultados correspondientes a los registros obtenidos multiunitariamente en el sujeto número 5. Al igual que en los sujetos 3 y 4, realizamos los registros en tres regiones y en tres profundidades diferentes. Los registros llevados a cabo en la región anterior fueron realizados a una profundidad de 1100 μm , mientras que los registros llevados a cabo en la región media, se realizaron a una profundidad de 597 μm y los realizados en la región posterior, a una profundidad de 681 μm . Los resultados correspondientes a los registros realizados en la región anterior se muestran en la figura 13A. Para esta región, los análisis determinaron que el área de los potenciales provocados multiunitarios, obtenidos previo a la estimulación eléctrica ruidosa, fue de 214.6 ± 67 u.a, y posterior a dicha estimulación, el área exhibida fue de 325.7 ± 108.5 u.a. Aplicamos la prueba Shapiro-Wilk para determinar la normalidad de los datos, los cuales resultaron tener una distribución normal, por lo que se aplicó la prueba t de Student para determinar si existe una diferencia. Los resultados mostraron que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($P = 0.001$; Figura 14J).

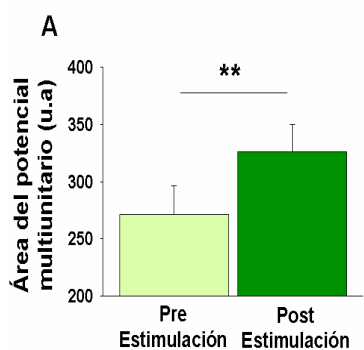
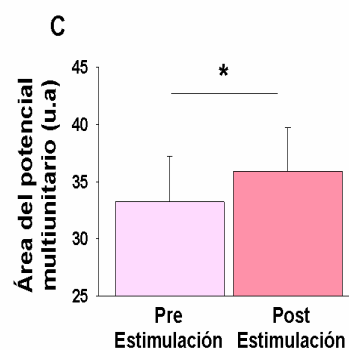
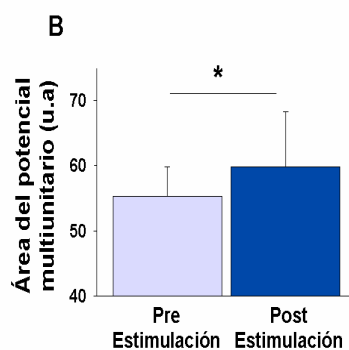
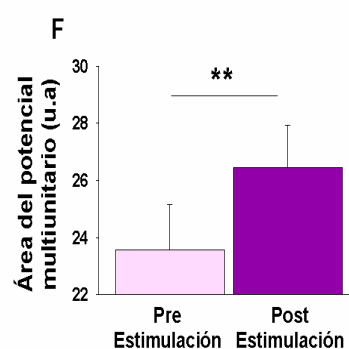
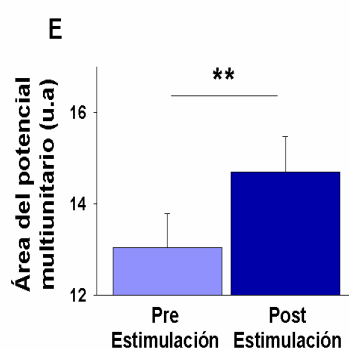
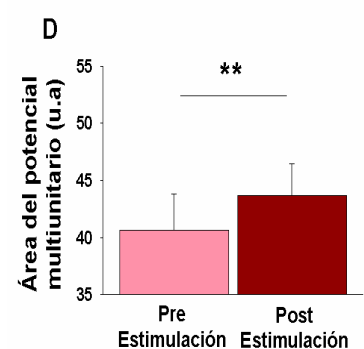
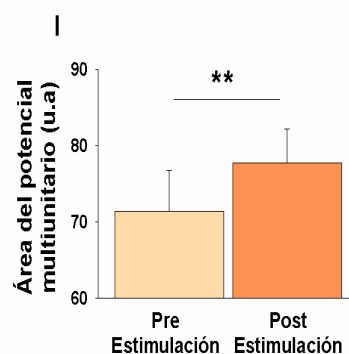
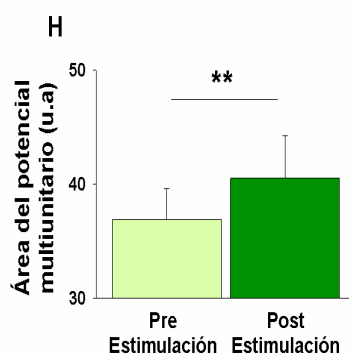
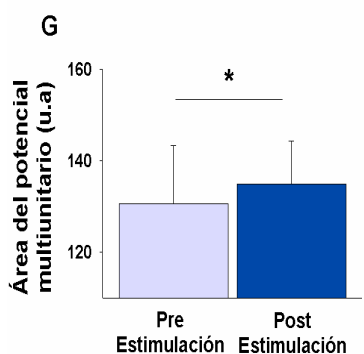
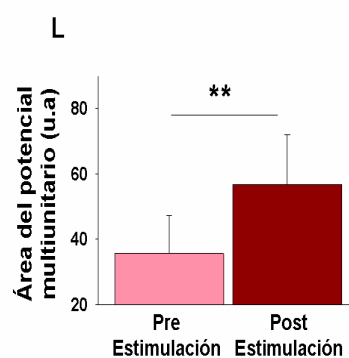
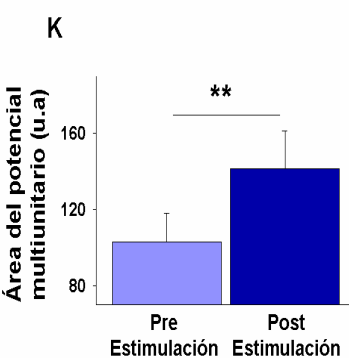
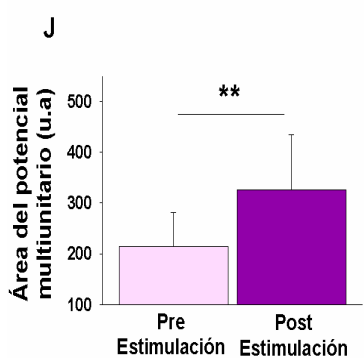
Sujeto 1**Sujeto 2****Sujeto 3****Sujeto 4****Sujeto 5**

Figura 14. Gráficas comparativas de las medias de cada grupo de experimentación con sus respectivos resultados estadísticos.

En el caso de los resultados obtenidos de los registros de la región media (Figura 13B) , previo a la estimulación eléctrica ruidosa, la media fue de 103.16 ± 14.8 u.a, y la media calculada de los datos obtenidos posterior a la estimulación fue de 141.4 ± 20 u.a. Los datos pasaron la prueba de normalidad aplicada con la prueba Shapiro-Wilk, y por tanto para determinar si exista una diferencia estadística sometimos los datos a la prueba t de Student. La prueba determinó que la media de los datos era grande por lo que existe una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.001$; Figura 14K).

Los resultados correspondientes a los registros obtenidos en la región posterior de la corteza de vibrisas se representan en la figura 13C. El análisis de estos datos arrojó que la media del área de los potenciales provocados multiunitarios obtenidos previo a la estimulación eléctrica ruidosa fue de 35.6 ± 11.6 u.a, y la media posterior a la estimulación, fue de 56.8 ± 15 u.a. Determinamos que los datos no presentaban una distribución normal, por lo que se aplicó la prueba Mann-Whitney para determinar si existía una diferencia. Los resultados mostraron que existe una diferencia estadísticamente significativa entre ambas medias ($P = 0.001$; Figura 14L).

En la tabla siguiente (Tabla 1) se expresan los datos obtenidos en todos los análisis por sujeto de experimentación.

--

Sujeto	Región de registro	Profundidad (μm)	Media pre-estimulación eléctrica (u.a.)	Media Post-estimulación eléctrica (u.a.)
1	Anterior	51	271.19 ± 25.33	325.89 ± 24.36
2	Anterior	1174	55.25 ± 4.54	59.81 ± 8.4
	Medio	35	33.22 ± 3.99	35.88 ± 3.81
3	Anterior	774	40.64 ± 3.14	43.64 ± 2.83
	Medio	234	13.04 ± 0.74	14.68 ± 0.78
	Posterior	298	23.56 ± 1.6	26.44 ± 1.49
4	Anterior	823	130.59 ± 12.78	134.97 ± 9.33
	Medio	306	36.88 ± 2.72	40.51 ± 3.69
	Posterior	324	71.38 ± 5.37	77.77 ± 4.42
5	Anterior	1100	214.59 ± 67.16	325.67 ± 108.54
	Medio	597	103.16 ± 14.87	141.4 ± 19.96
	Posterior	681	35.59 ± 11.57	56.79 ± 15.09

8. Discusión

En esta tesis encontramos que la señal multiunitaria provocada por la estimulación mecánica de las vibrisas, exhibe un incremento estadísticamente significativo después de 10 minutos de estimulación eléctrica ruidosa sobre la corteza somatosensorial de los barriles. Este resultado fue consistente en varios animales y en diferentes regiones y profundidades de la corteza de los barriles.

Nuestros resultados son consistentes con hallazgos previos del laboratorio (Tesis de Maestría de Lizarraga, 2020), en los que se empleó el mismo tipo de estimulación eléctrica ruidosa sobre la corteza de los barriles, pero en los que se registraron los potenciales provocados en la superficie de dicha corteza cerebral en lugar de la actividad multiunitaria en diferentes profundidades corticales.

Nuestros resultados también son consistentes con estudios previos realizados por Huidobro y cols., 2017, quienes examinaron si la aplicación directa de luz ruidosa en las neuronas piramidales de la corteza de los barriles del ratón que expresa la canalrhodopsina-2 (ChR2), puede producir facilitación en los potenciales de campo provocados somatosensoriales. Huidobro y cols., 2017, usaron ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP anestesiados, y un nuevo método, que llamaron fotoestimulación de ruido optogenético browniano. Con ello, proporcionaron evidencia de cómo la fotoestimulación de ruido optogenético aplicada directamente en la corteza de los barriles modula la relación señal ruido en la amplitud de los potenciales de campo producidos por protracción de la vibrisas. En todos los ratones transgénicos, encontraron que la amplitud de los potenciales provocados corticales exhibía una forma de U invertida en función del nivel de fotoestimulación de ruidosa optogenética. Como control, también aplicaron el mismo

paradigma experimental, pero en ratones de tipo salvaje, y como se esperaba, no se encontró ningún efecto de facilitación en ratones de tipo salvaje. Este resultado de Huidobro y cols., 2017, el resultado de Lizarraga, 2020 y el resultado de la presente tesis, pueden ser relevantes para explicar las mejoras encontradas en la detección sensorial en humanos, producidas por la aplicación estimulación ruidosa eléctrica transcraneal.

La estimulación eléctrica ruidosa transcraneal en el humano es una técnica no invasiva que puede emplearse para aumentar la excitabilidad de la corteza cerebral (Terney y cols., 2008); sin embargo, los mecanismos fisiológicos siguen sin estar claros. Remedios y cols., 2019, han sido pioneros en tratar de describir en células piramidales disociadas los efectos de la estimulación eléctrica ruidosa a corto plazo (250 ms). Estos autores encontraron una correlación entre la amplitud máxima de la corriente de Na^+ y su latencia para diferentes niveles de estimulación eléctrica ruidosa sobre esas neuronas piramidales aisladas. Encontraron tres grupos de neuronas. El primer grupo mostró una correlación positiva, el segundo, una correlación negativa y el tercer grupo de neuronas no mostró correlación. En el primer grupo, tanto la amplitud máxima de una corriente de Na^+ sensible a TTX, como su inversa de latencia siguieron funciones similares a una U invertida en relación con el nivel de ruido eléctrico. En este grupo, los niveles de ruido en los que ocurrieron los valores máximos de las funciones similares a U invertidas fueron los mismos. En el segundo grupo, los valores máximos de las funciones similares a U invertidas ocurrieron en diferentes niveles. En el tercer grupo, solo la amplitud máxima de la corriente de Na^+ exhibió una clara función similar a la U invertida,

pero la inversa de la latencia frente al ruido eléctrico, no exhibió una clara función similar a la U invertida. Un modelo de neuronas del tipo Hodgkin-Huxley reprodujo los resultados experimentales y mostró que el comportamiento observado en la corriente de Na^+ podría deberse al impacto del ruido eléctrico en la cinética de activación e inactivación de los canales de Na^+ . En este contexto, es muy probable que este también sea un mecanismo por el cual ocurre un incremento en la actividad eléctrica multunitaria de las neuronas de la corteza de los barriles después de la estimulación ruidosa de larga duración de 10 minutos. Es por ello, que los resultados de la presente tesis son relevantes, porque plantean la necesidad de examinar los efectos de la estimulación eléctrica ruidosa de neuronas piramidales aisladas, con un protocolo de larga duración de 10 minutos.

Por otra parte, recientemente Mabil y cols., 2020, replicaron los experimentos de Remedios y cols., 2019, pero en ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP, utilizando ruido optogenético en lugar de ruido eléctrico. Encontraron que el ruido optogenético también es capaz de aumentar la amplitud de las corrientes de Na^+ de las neuronas piramidales somatosensoriales provocadas por rampas de voltaje. Sin embargo, no encontraron efectos del ruido optogenético en ninguno de los ratones de tipo salvaje.

El hallazgo de la presente tesis, sugiere que la estimulación ruidosa de larga duración 10 minutos podría emplearse en posibles aplicaciones clínicas en pacientes tetraplégicos, para incrementar la sensibilidad a “estímulos sensoriales” en neuroprótesis corticales. Esto en el contexto de que el ruido eléctrico y óptico

podría usarse en tecnologías de interfaz cerebro-máquina. A continuación explicamos esta posibilidad basándonos en bibliografía previa.

En primates, Medina y col. (2012), encontraron que la estimulación con ruido eléctrico de la corteza somatosensorial primaria mejoró la "sensación táctil artificial" producida por patrones de microestimulación intracortical. Este hallazgo sugiere fuertemente que el ruido eléctrico aplicado a la corteza somatosensorial podría emplearse en el futuro en humanos para mejorar la percepción táctil y el aumento de la función cerebral a través de interfaces cerebro-máquina. Por lo tanto, se podría administrar ruido a la corteza cerebral para mejorar las sensaciones protésicas generadas por patrones de microestimulación intracortical.

El resultado obtenido de la presente tesis también es consistente con los hallazgos de Terney y cols. (2008), quienes examinaron los efectos a largo plazo de la estimulación ruidosa transcraneal, demostrando que es útil para mejorar los potenciales motrices provocados por estimulación magnética transcraneal en humanos. En particular, estos autores demostraron que 10 minutos de estimulación de ruido transcraneal, administrados continuamente en la corteza motora primaria, aumentan la amplitud de los potenciales motores provocados por la estimulación magnética transcraneal. Estos autores encontraron que el ruido eléctrico transcraneal puede generar durante aproximadamente 1 hora un aumento de la excitabilidad de la vía cortico espinal. En esta tesis, también encontramos un aumento en la excitabilidad de neuronas de la corteza cerebral, al administrar ruido eléctrico por 10 minutos, pero en la zona somatosensorial. Asimismo, nosotros encontramos aumentos en la excitabilidad por periodos más largos que 1 hora, lo

que muestra que el efecto potenciador del ruido eléctrico sobre la corteza cerebral es mayor a lo previamente encontrado por Terney y cols. 2008.

Sin embargo, debemos tener cuidado al extrapolar los estudios realizados en animales al humano, principalmente porque 1) los experimentos que realizamos se hicieron en una preparación anestesiada, y 2) las propiedades emergentes de las redes neuronales en el cerebro consciente juegan un papel fundamental en la fisiología de la sensación y la percepción sensorial.

9. Conclusión

Concluimos que la señal multiunitaria provocada por la estimulación mecánica de las vibrisas, exhibe un incremento estadísticamente significativo después de 10 minutos de estimulación eléctrica ruidosa sobre la corteza somatosensorial de los barriles. Este resultado es relevante, ya que aporta nuevo conocimiento para poder estudiar en un futuro los mecanismos neuronales que ocurren después de la estimulación eléctrica ruidosa de la corteza cerebral.

10. Bibliografía

Benzi R., Sutera A., Vulpiani A (1981). The mechanism of stochastic resonance. *Journal Of Physics A: Mathematical And General*, 14(11), L453-L457. doi: 10.1088/0305-4470/14/11/006

Bosman, LWJ., Houweling, A .R., Owens, C.B., Tanke, N., Shevchouk, O., Rahmati, N., Teunissen, W.H.T., Ju, C., Gong, W., Koekkoek, S.K.E., De Zeeuw, C.I. (2011) Anatomical pathways involved in generating and sensing rhythmic whisker movements. *Frontiers in Integrative Neuroscience*.

Diamond, D.M., Bennett, M.C., Fleshner, M., Rose, G.M. (1992). Inverted-U relationship between the level of peripheral corticosterone and the magnitude of hippocampal primed burst potentiation. *Hippocampus*, 2(4), 421-430.

Faisal, A., Selen, L., Wolpert, D. (2008). Noise in the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(4), 292-303. doi: 10.1038/nrn2258

Fertonani, A., Pirulli, C., Miniussi, C. (2011). Random noise stimulation improves neuroplasticity in perceptual learning. *Journal of Neuroscience*, 31(43), 15416-15423.

Francis, J.T., Gluckman, B. J., and Schiff, S. J. (2003). Sensitivity of neurons to weak electric fields. *Journal of Neuroscience*, 23(19), 7255-7261.

Gammaitoni, L., Hänggi, P., Jung, P., Marchesoni, F. (1998). Stochastic resonance. *Reviews of Modern Physics*, 70(1), pp.223-287.

Garrett, D., Samanez-Larkin, G., MacDonald, S., Lindenberger, U., McIntosh, A., Grady, C. (2013). Moment-to-moment brain signal variability: A next frontier in human brain mapping?. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(4), 610-624. doi:10.1016/j.neubiorev.2013.02.015

Heams, T. (2014). Randomness in biology. *Mathematical Structures in Computer Science*, 24(3).

Huidobro, N., Mendez-Fernandez, A., Mendez-Balbuena, I., Gutierrez, R., Kristeva, R., Manjarrez, E. (2017). Brownian optogenetic-noise-photostimulation on the brain amplifies somatosensory-evoked field potentials. *Frontiers in neuroscience*, 11, 464.

Huidobro, N., De la Torre-Valdovinos, B., Mendez, A., Treviño, M., Arias-Carrion, O., Chavez, F., Manjarrez, E. (2018). Optogenetic noise-photostimulation on the brain increases somatosensory spike firing responses. *Neuroscience letters*, 664, 51-57.

Itzcovich, E., Riani, M., Sannita, W. (2017). Stochastic resonance improves vision in the severely impaired. *Scientific Reports*, 7(1).

Iwasato, T., Datwani, A., Wolf, A. M., Nishiyama, H., Taguchi, Y., Tonegawa, S., Itohara, S. (2000). Cortex-restricted disruption of NMDAR1 impairs neuronal patterns in the barrel cortex. *Nature*, 406(6797), 726-731.

Krauss, P., Tziridis, K., Metzner, C., Schilling, A., Hoppe, U., Schulze, H. (2016). Stochastic Resonance Controlled Upregulation of Internal Noise after Hearing Loss

as a Putative Cause of Tinnitus-Related Neuronal Hyperactivity. *Frontiers In Neuroscience*, 10. doi: 10.3389/fnins.2016.00597

Krauss, P., Metzner, C., Schilling, A., Schütz, C., Tziridis, K., Fabry, B., Schulze, H. (2017). Adaptive stochastic resonance for unknown and variable input signals. *Scientific Reports*, 7(1). doi: 10.1038/s41598-017-02644-w

Lavallée, P., Urbain, N., Dufresne, C., Bokor, H., Acsády, L., Deschênes, M. (2005). Feedforward inhibitory control of sensory information in higher-order thalamic nuclei. *Journal of Neuroscience*, 25(33), 7489-7498.

Lázaro, S. G., Blasco, T. F., Salmerón, L. B., Costa, D. M. (2011). Estudio de la rivalidad binocular mediante fMRI (ii). *Gaceta de optometría y óptica oftálmica*, (462), 44-52.

Liu, A., Vöröslakos, M., Kronberg, G., Henin, S., Krause, M., Huang, Y., Opitz, A., Mehta, A., Pack, C., Krekelberg, B., Berényi, A., Parra, L., Melloni, L., Devinsky, O., Buzsáki, G. (2018). Immediate neurophysiological effects of transcranial electrical stimulation. *Nature Communications*, 9(1).

Mancini, R. (2002). *Op Amps for Everyone*. Texas, USA: Texas Instruments.

McDonnell, M., Abbott, D. (2009). What Is Stochastic Resonance? Definitions, Misconceptions, Debates, and Its Relevance to Biology. *Plos Computational Biology*, 5(5), e1000348. doi: 10.1371/journal.pcbi.1000348

Mabil, P., Huidobro, N., Torres-Ramirez, O., Flores-Hernandez, J., Flores, A., Gutierrez, R., Manjarrez, E. (2020). Noisy light augments the Na⁺ current in

somatosensory pyramidal neurons of optogenetic transgenic mice. *Frontiers in Neuroscience*, 14.

Mabil, P., Huidobro, N., Flores, A., Manjarrez, E. (2021). Potential role of noise to improve intracortical microstimulation in tactile neuroprostheses. *Neural Regeneration Research*, 16(8), 1533.

Manjarrez, E., Diez-Martínez, O., Méndez, I., Flores, A. (2002a). Stochastic resonance in human electroencephalographic activity elicited by mechanical tactile stimuli. *Neuroscience Letters*, 324(3), 213-216. doi: 10.1016/s0304-3940(02)00212-4

Manjarrez, E., Rojas-Piloni, J., Méndez, I., Martínez, L., Vélez, D., Vázquez, D., Flores, A. (2002b). Internal stochastic resonance in the coherence between spinal and cortical neuronal ensembles in the cat. *Neuroscience Letters*, 326(2), pp.93-96.

Manjarrez, E., Rojas-Piloni, G., Méndez, I., Flores, A. (2003). Stochastic resonance within the somatosensory system: effects of noise on evoked field potentials elicited by tactile stimuli. *Journal of Neuroscience*, 23(6), 1997-2001.

Martínez, L., Pérez, T., Mirasso, C. Manjarrez, E. (2007). Stochastic Resonance in the Motor System: Effects of Noise on the Monosynaptic Reflex Pathway of the Cat Spinal Cord. *Journal of Neurophysiology*, 97(6), pp.4007-4016.

Medina L.E., Lebedev M.A., O'Doherty J.E., Nicolelis M.A. (2012) Stochastic facilitation of artificial tactile sensation in primates. *J Neurosci* 32: 14271-14275.

Paulus, W. (2011). Transcranial electrical stimulation (tES–tDCS; tRNS, tACS) methods. *Neuropsychological rehabilitation*, 21(5), 602-617.

Petersen, C.C. (2007). The functional organization of the barrel cortex. *Neuron*, 56(2), 339-355.

Remedios, L., Mabil, P., Flores-Hernández, J., Torres-Ramírez, O., Huidobro, N., Castro, G., Tapia, J.A., Flores, A, Manjarrez E. (2019). Effects of Short-Term Random Noise Electrical Stimulation on Dissociated Pyramidal Neurons from the Cerebral Cortex. *Neuroscience*, 404, 371-386.

Siegel, A. Sapru, H. (2015). *Essential Neuroscience*. Third edition.

Simons, D. (1978). Response properties of vibrissa units in rat SI somatosensory neocortex. *Journal of Neurophysiology*, 41(3), pp.798-820.

Sorokin, V. Demidov, I. (2021). On representing noise by deterministic excitations for interpreting the stochastic resonance phenomenon. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 379(2192), p.20200229.

Terney D., Chaieb, L., Moliadze, V., Antal, A., Paulus, W. (2008). Increasing human brain excitability by transcranial high-frequency random noise stimulation. *J Neurosci* 28, 14147–14155.

Trageser, J. C., Burke, K. A., Masri, R., Li, Y., Sellers, L., Keller, A. (2006). State-dependent gating of sensory inputs by zona incerta. *Journal of Neurophysiology*, 96(3), 1456-1463.

Treviño, M., De la Torre-Valdovinos, B. and Manjarrez, E. (2016). Noise Improves Visual Motion Discrimination via a Stochastic Resonance-Like Phenomenon. *Frontiers in Human Neuroscience*, 10

Tsimring, L. (2014). Noise in biology. *Reports on Progress in Physics*, 77(2), p.026601.

Van der Groen, O., Mattingley, J., Wenderoth, N. (2019). Altering brain dynamics with transcranial random noise stimulation. *Scientific Reports*, 9(1).

Van der Loos, H., Woolsey, T. A. (1973). Somatosensory cortex: structural alterations following early injury to sense organs. *Science*, 179(4071), 395-398.

Woolsey, H., Van der Loos (1970) The structural organization of layer IV in the somatosensory region (SI) of mouse cerebral cortex: the description of a cortical field composed of discrete TA . *Brain research*, Elsevier.

Wong-Riley, M.T., Welt, C. (1980). Histochemical changes in cytochrome oxidase of cortical barrels after vibrissal removal in neonatal and adult mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77(4), 2333-2337.