



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Instituto de Fisiología

Laboratorio de Neurofisiología Integrativa



Caracterización de las ondas de Mayer locales y sistémicas en la médula espinal y el cerebro del gato asociadas a eventos vasculares inducidos

Tesis presentada para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias Fisiológicas

Presenta

Biol. Jesús Jaime Romero Vaca

Director de tesis

Dr. Elias Manjarrez López

Asesores de Tesis

Dra. Amira del Rayo Flores Urbina

Dr. Enrique Soto Eguibar

Noviembre 2020

Agradecimientos:

Al Dr Elias, por estos años de enseñanza, dedicación y paciencia.

A mis revisores, por sus aportaciones a lo largo de este proyecto.

A mis compañeros del Laboratorio de Neurofisiología Integrativa, por hacerme sentir siempre en casa y ayudarme siempre que lo necesité.

A mi familia, por su apoyo.

A Vale, por todo.

Para la realización del presente trabajo se contó con el apoyo del CONACyT a través del Programa Nacional de Becas con el número de apoyo 713334.

Contenido

Resumen	7
Introducción	8
Presión arterial	8
Regulación de la presión arterial	9
Reflejos barorreceptores	9
Sistema renina-angiotensina-aldosterona	12
Ondas Vasomotoras	15
Ondas de primer orden	17
Ondas Hering-Traube	19
Ondas de Mayer	23
Eventos neuro-vasculares	26
Isquemias espinales	27
Diagnóstico y tratamiento de eventos neurovasculares	28
Fotopletismografía	30
Hemoglobina	30
Ley Beer-Lambert	32
Longitud de onda de la fuente de luz	34
Montaje experimental: fotopletismógrafo	37
Resultados obtenidos anteriormente	39
Hipótesis	41
Objetivo general	42
Objetivos particulares	42
Metodología	43
Consideraciones bioéticas	43
Muestra	43

Muestreo	43
Anestesia y preparación previa a la cirugía	44
Control térmico.....	45
Canulación de las arterias carótidas	45
Registro de la presión arterial	46
Traqueotomía.....	47
Ventilación artificial y electrocardiograma	47
Diseccción de los nervios	48
Craneotomía	48
Registros en el cerebro	49
Registros en médula espinal por transiluminación	49
Laminectomía y descerebración	49
Registro de las ondas de Mayer locales en la médula espinal.	50
Modelos de lesión	51
Eutanasia.....	51
Análisis de datos	52
Resultados	53
Registros obtenidos en la médula espinal.....	53
Generalidades de los registros obtenidos.....	54
Retraso las señales PPG de la médula espinal y la PA.....	55
Registros control en la médula espinal.	57
Registros en el modelo de isquemia espinal.....	61
Comparación de los registros obtenidos en condiciones control y de isquemia espinal.	63

Coeficientes de correlación y comparación de estos entre grupos.....	70
Registros obtenidos en la corteza cerebral	76
Retraso las señales PPG de la corteza cerebral y la PA.	78
Registros control en la corteza cerebral.....	79
Registros en el modelo de isquemia cortical.....	81
Comparación de los registros obtenidos en condiciones control y de isquemia cortical.	84
Coeficientes de correlación y comparación entre los registros control y aquellos obtenidos en condiciones de lesión isquémica.	91
Resumen de los resultados.	98
Registros realizados en la médula espinal.....	98
Registros realizados en la corteza cerebral	99
Discusión.....	100
Retraso entre las señales PPG y PA	100
Amplitud de las ondas de Mayer	101
Limitaciones del modelo de lesión implementado.....	102
Resultados obtenidos.....	103
Conclusiones.....	106
Anexos: Artículo como co-autor y solicitud de patente	107
Artículo como co-autor (Moreno-Castillo y cols., 2020).....	108
Solicitud de patente.....	117
Bibliografía	125

Resumen

En esta tesis se caracterizaron las ondas vasomotoras correspondientes al intervalo R-R del ciclo cardiaco, las ondas Hering-Traube de origen respiratorio y las ondas de Mayer. Ello se hizo en registros control y aquellos sujetos con lesiones isquémicas, tanto en la presión arterial, como en la señal fotopletismográfica proveniente del tejido neural.

Adicionalmente, se demostró una disminución en la correlación de las señales fotopletismográficas del tejido neural y aquellas provenientes de un catéter intra-arterial, en respuesta a un modelo de lesión isquémica por bloqueo mecánico y cauterización.

Finalmente, el presente trabajo abre las puertas a estudios futuros de respuestas hemodinámicas y neurales durante diferentes condiciones de actividad motriz, en modelos de lesión y en condiciones basales.

Parte de la metodología empleada en esta tesis contribuyó a la presentación de una patente (Manjarrez y Romero-Vaca, 2019) y a la publicación de un artículo en coautoría (Moreno-Castillo y cols., 2020).

Introducción

Presión arterial

La presión arterial es la fuerza con la que la sangre empuja las paredes vasculares a medida que recorre el cuerpo después del bombeo cardíaco (Ghai, 2012). Este signo vital fue estudiado de forma cuantitativa por primera por Stephen Hales en 1733 (Sun & Schwarzenberger, 2010), aunque no fue hasta 1846 que fue desarrollado el manómetro de mercurio por Poiseuille (Hall, 2016).

Actualmente, se sabe que la presión arterial y su regulación son de vital importancia para garantizar el correcto funcionamiento de los órganos, teniendo cada especie un rango promedio. En los gatos, dicho rango es de aproximadamente 105 ± 10 mmHg para la presión arterial promedio (Brown, y cols., 2007). Si dicho parámetro se encuentra fuera de sus parámetros fisiológicos, no se puede llevar a cabo la correcta perfusión de los órganos y por ende hay fallas en el suministro de nutrientes y en el intercambio gaseoso (Bernardi, y otros, 2001).

Dada su importancia fisiológica, los organismos han desarrollado múltiples mecanismos de control para la presión arterial, principalmente mediante los sistemas nervioso y endócrino (Zheng, Giovannini, & Murray, 2012). A pesar de la existencia de mecanismos de control, la presión arterial no tiene un valor estático, sino que cambia constantemente. Es por ello que es posible registrar cambios en la presión arterial durante diversas condiciones, como los ciclos circadianos (Bowers & Murray, 2004) y la actividad muscular (Eckberg & Wallin, 1987; Joyner & Casey, 2015). En los humanos, se han observado cambios en la presión arterial durante el habla y la respiración profunda (Zheng, Giovannini, & Murray, 2012), así como durante la expresión de las emociones (Parati, Ochoa, Lombardi, & Bilo, 2013).

Adicionalmente, se ha descrito cómo este signo vital puede alterarse por diversos factores fisiopatológicos y farmacológicos (Ead, Green, & Neil, 1952)

(Stromberg & Fox, 1972). La alteración de los valores normales, así como su variabilidad anómala, puede llevar a consecuencias graves como hipertensión, hipotensión, falla renal y enfermedades del sistema circulatorio crónicas y agudas. Un evento agudo drástico o crónico en la alteración de la presión arterial puede desencadenar patologías potencialmente mortales, como los infartos. Estudios anteriores han sugerido una relación entre la hipertensión arterial y fallas cardíacas con la sobreactividad del sistema nervioso simpático en el humano (Mueller, 2007).

Regulación de la presión arterial

A pesar de que no se comprende por completo la regulación endógena de la presión arterial, se han descrito ampliamente los siguientes dos sistemas de regulación: 1) reflejo barorreceptor de presión alta en el arco aórtico y seno de la carótida, 2) reflejo barorreceptor de presión baja en las venas y el sistema renina-angiotensina-aldosterona (Hall, 2016). Estos mecanismos se encuentran estrechamente relacionados y funcionan en conjunto para mantener la presión en valores ópticos en los organismos sanos (Ghai, 2012).

Reflejos barorreceptores

Los barorreceptores son un tipo de mecanorreceptor, ubicados en el tejido vascular. Este tipo de células son excitadas por el estiramiento del tejido, desencadenando un potencial de acción, el cual es transmitido al sistema nervioso central. Dicha información sensorial es empleada en los reflejos autonómicos, de modo que se modifique y regule la actividad cardíaca y la resistencia periférica, por medio de la contracción o relajación de los músculos lisos en el tejido vascular (Heesch, 1999). Los barorreceptores se dividen en dos categorías: 1) los barorreceptores de presión alta, ubicados en el arco aórtico y seno de la carótida; y 2) los barorreceptores de

presión baja, los cuales se ubican en las venas principales, la vasculatura pulmonar y en las paredes del atrio y ventrículo derechos del corazón.

Barorreceptores de presión alta en el arco aórtico y seno de la carótida

Esta clase de barorreceptores se encuentran ubicados en el arco aórtico y el seno de la carótida, cerca de su bifurcación. Los barorreceptores de la carótida y la aorta se diferencian en que aquellos ubicados en el seno de la carótida.

Una vez que los barorreceptores detectan un cambio en el tono vascular debido a la presión arterial, la información eferente de los receptores viaja hacia el núcleo del tracto solitario en el aspecto dorsal del tallo cerebral (Wallbach & Koziolk, 2018). Para aquellos sensores ubicados en la carótida, la información viaja por el nervio glosofaríngeo (IX par craneal), mientras que la información de los barorreceptores de la aorta viaja por el nervio vago (X par craneal) (Ghai, 2012). Posteriormente, la información se envía a la médula oblonga ventrolateral caudal (MVLC) por medio de fibras glutamatérgicas (Kumagi, y cols., 2012). Es en este punto que la información es transferida a la médula oblonga ventrolateral rostral (MVLR), donde se encuentran los centros cardiacos y vasomotores, empleando fibras inhibitorias GABAérgicas (Mischel y cols., 2015).

Al inhibir la MVLR, se disminuye la actividad simpática la cual es proyectada al ventrículo izquierdo por medio de la liberación de acetilcolina. Dicha activación parasimpática, da lugar a la disminución de la presión arterial al disminuir la frecuencia y fuerza de la contracción cardiaca; así como la vasodilatación arterial (Stanfield, 2013).

Barorreceptores de presión baja en venas

Los barorreceptores de presión arterial baja se encuentran ubicados en las venas sistémicas, vasculatura pulmonar, así como en el atrio y ventrículo derechos. Estos barorreceptores se activan durante el descenso en la presión arterial y tienen como respuesta el aumento en la presión arterial por medio del incremento en la frecuencia y fuerza de contracción cardíaca, la vasoconstricción, y la retención de líquidos, de modo que aumente el volumen circulante (Stanfield, 2013).

Al igual que en los barorreceptores de presión alta, la información sensorial se envía por medio de los pares craneales IX y X hacia la médula oblonga ventrolateral. Posteriormente, esta viaja hacia los centros cardiovasculares en el aspecto rostral de dicha estructura. La diferencia con el otro tipo de barorreceptores, es que ocurre una activación simpática, y se inhibe el sistema parasimpático (Wallbach & Koziolk, 2018).

Sistema renina-angiotensina-aldosterona

Otro de los mecanismos empleados para la regulación de la presión arterial es el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). Dicho sistema hormonal no solo regula la presión arterial, ya que modula el balance electrolítico en los fluidos corporales (Montgomery, Humphries, & Leung, 2003). El SRAA entra en acción cuando los barorreceptores en el seno de la carótida detectan una pérdida en el volumen sanguíneo, una caída en la presión arterial, o una disminución en la perfusión del aparato juxta-glomerular de la mácula densa de los riñones (Stanfield, 2013).

Una vez que los barorreceptores son activados se activa el sistema simpático, el cual comienza a secretar acetilcolina hacia las células cromafines de las glándulas suprarrenales. Estas células a su vez desencadenan la liberación de epinefrina y hormona antidiurética. Estas hormonas entran al torrente sanguíneo teniendo múltiples efectos en distintos órganos: acelerando el corazón, contrayendo los vasos sanguíneos y aumentando la retención de líquidos; de modo que la presión arterial sistémica aumenta (Levy & Pappano, 2007).

Adicionalmente, los riñones son capaces de comenzar una actividad regulatoria por medio de la secreción de la hormona renina. Esta hormona se une al angiotensinógeno secretado de manera constitutiva hacia el torrente sanguíneo por el hígado. Dicha unión causa el corte del angiotensinógeno por la renina, formando un decapeptido llamado angiotensina I (Ang-I), la cual es inactiva. Continuando con el ciclo, Ang-I viaja por el torrente sanguíneo hasta los capilares pulmonares, donde la enzima convertidora de angiotensina (ACE) corta los amino ácidos histidina y leucina del extremo carboxilo terminal de la angiotensina I, formando el octapeptido angiotensina II (Ang-II) (Coates, 2003). ACE no solo es producida por los epitelios pulmonares y de las capilares pulmonares, sino que también se ha encontrado en epitelio renal, del intestino delgado y el epidídimo en los testículos, así como en neuronas cerebrales (Danilov & cols., 1994).

La angiotensina II es la principal molécula efectora del SRAA siendo un vasoconstrictor y regulador de la absorción renal de sodio (Kramár, Harding, & Wright, 1997). La forma en la que Ang-II tiene efecto es por medio de los receptores AT1R, los cuales son más comunes en organismos adultos; y AT2R común en los fetos, por lo que se ha propuesto su función como un factor de crecimiento y diferenciación (Yin, Yan, & Berk, 2003).

Al unirse Ang-II a AT1R se desencadena la vasoconstricción, activación del sistema simpático, la secreción de aldosterona y vasopresina, así como la retención de agua por los riñones, sensación de sed y un aumento en la contractibilidad cardíaca (Fyhirsquist & Saijonmaa, 2008). Por su parte, la unión con AT2R tiene el efecto contrario causando vasodilatación y natriuresis (Wakefield, Busse, & Khanna, 2019).

AngII tiene una vida media de 1 minuto en el plasma sanguíneo, donde es degradada por la aminopeptidasa A (APA) formando el heptapéptido angiotensina III (AngIII), un vasoconstrictor débil que actúa en los receptores AT1R y AT2R, o por ACE2 formando angiotensina-(1-7), la cual es vasodilatadora y actúa en los receptores Mas (Yugandhar & Clark, 2013). AngIII a su vez es degradada por la aminopeptidasa B (APB) o la aminopeptidasa N (APN) hasta formar el hexapéptido Ang-IV. Esta última forma de angiotensina actúa sobre los receptores AT4R desencadenando la vasodilatación en el organismo (Wright & Harding, 1997).

Aldosterona

El último componente del SRAA es la hormona mineral-corticoide aldosterona. Dicha hormona es producida a partir de colesterol en la zona glomerular de la corteza de la glándula adrenal. Su síntesis y liberación es regulada por aumentos en la concentración de Ang-II y Ang-III en la corteza adrenal y sangre, altos niveles de potasio en sangre, y/o la disminución en la presión arterial detectada por mecanorreceptores en los atrios del corazón.

Una vez liberada, la aldosterona actúa en los receptores nucleares para mineral-corticoides (MR) en las células del túbulo distal y el túbulo colector en las nefronas. Dichos receptores activan las bombas basolaterales de sodio/potasio, de forma que tres iones de sodio son excretados, mientras que dos iones de potasio entran a la célula desde el líquido intersticial. El cambio en los gradientes de concentración causa la reabsorción de sodio y agua de la orina a la sangre, mientras que se excreta el potasio hacia el lumen de los túbulos colectores (Palmer & Frindt, 2000).

Adicionalmente, Ang-II causa vasoconstricción en los capilares hepáticos, por lo que disminuye la secreción de enzimas hepáticas encargadas de degradar la aldosterona (Messerli, Nowaczynski, & Honda, 1977).

Ondas Vasomotoras

Desde los trabajos de Stephen Hales en el siglo XVIII (Lewis, 1994), se han observado las fluctuaciones en la presión arterial sistémica de un momento a otro. Hoy en día, se sabe de la existencia de tres tipos de fluctuaciones u ondas correspondientes a la actividad vasomotora de los organismos, así como la presencia de oscilaciones lentas acopladas al ritmo circadiano. Dichos tipos de ondas pueden clasificarse en tres órdenes, los cuales se relacionan a su frecuencia y a la superposición de unas sobre otras, siendo en orden ascendente cada vez más lentas (figura 1) (Julien, 2006). Es importante resaltar que dichas ondas vasomotoras no son de una misma magnitud, frecuencia u origen (Scarr, 2016).

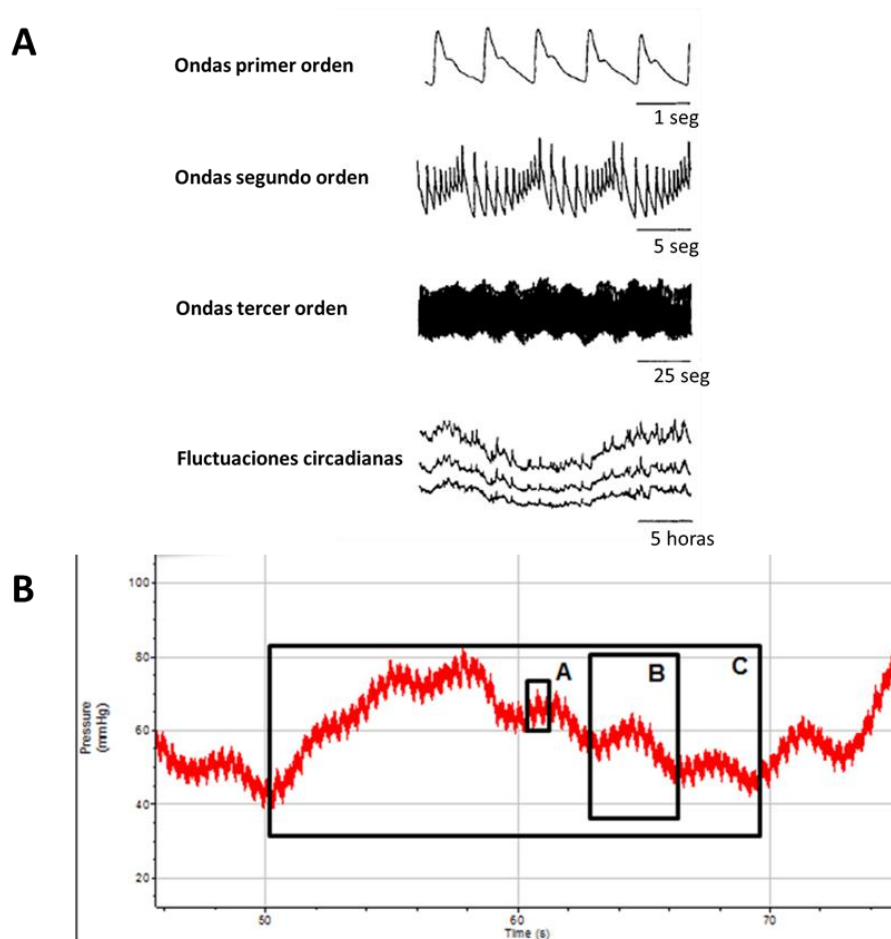


Figura 1: A: Registros de las oscilaciones de la presión arterial de primer, segundo y tercer nivel; así como de las fluctuaciones asociadas al ritmo circadiano. Modificada de Pagani y cols. (1996). B: Registro de la presión arterial en un gato descerebrado. El recuadro A muestra una onda de primer nivel, correspondiente al intervalo R-R del ciclo cardíaco. El recuadro B, enmarca una onda de segundo orden denominada Hering-Traube, la cual es causada por la frecuencia respiratoria (0.303 Hz). Finalmente, en C se denota una onda de tercer orden o de Mayer, la cual se

cree es producto de la actividad nerviosa simpática y se definen como aquellas oscilaciones en la presión arterial más lentas que la respiración (0.05-0.10 Hz).

Ondas de primer orden

Las ondas de primer orden, también conocidas como ondas rápidas, son provocadas por los cambios en el flujo sanguíneo desde el corazón hacia el sistema vascular periférico durante el ciclo cardiaco (Halliburton, 1919). Dichas oscilaciones se deben al ciclo cardiaco, principalmente al intervalo R-R del ciclo cardiaco siendo sus frecuencias muy similares (Cevese & cols., 2001).

El intervalo R-R, corresponde al tiempo de aparición de dos picos R subsecuentes en el registro del electrocardiograma, denotando los puntos máximos de la contracción ventricular entre dos latidos cardiacos continuos. Dichas ondas son parte del complejo QRS (Ghai, 2012). Al contraerse los ventrículos, la sangre es bombeada de desde el ventrículo derecho a la arteria pulmonar y del ventrículo izquierdo hacia la aorta, por lo que la presión arterial sistémica aumenta (Figura 2).

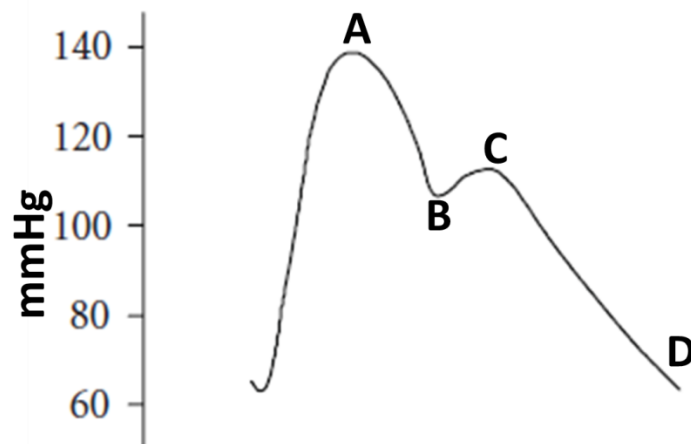


Figura 1: Registro de la presión arterial durante un ciclo cardiaco. A: presión arterial sistólica, B: cierre de la válvula aórtica, C: apertura de la válvula mitral, D: presión arterial diastólica. Modificado de Steppan & cols. (2011).

A pesar de que el corazón es capaz de mantener un ritmo propio debido al nodo sinoauricular en condiciones normales, se puede regular la frecuencia de las contracciones cardiacas por medio de la regulación nerviosa de modo que el flujo sanguíneo sea óptimo. En el caso de las ondas vasomotoras de primer orden, Zhang y colaboradores (2002) demostraron su origen en el sistema nervioso simpático al modificar el intervalo R-R por medio del bloqueo ganglionar por administración de trimetafán, un antagonista competitivo de la acetilcolina en la subunidad alfa-10 de los receptores post-sinápticos (Wishart, & cols., 2018). Una vez aplicado el fármaco, se observó un decremento en la variabilidad en el intervalo R-R y su efecto depresor en la presión arterial (figura 3).

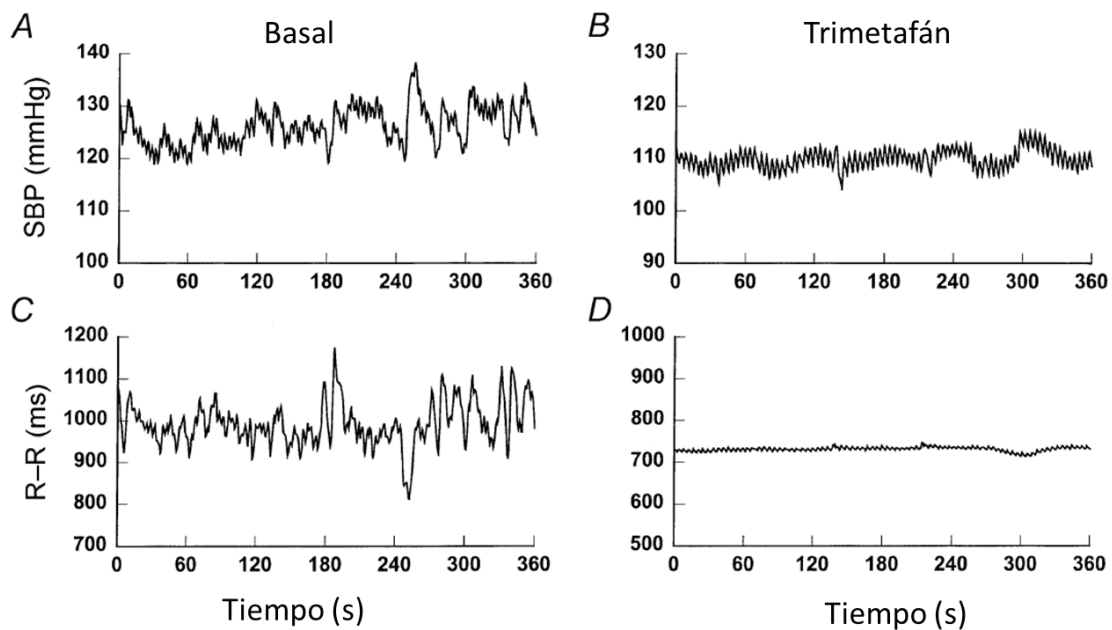


Figura 2: Trazos correspondientes a la presión arterial sistólica (A y B) y el intervalo R-R (C y D) antes y después del bloqueo ganglionar por medio de la aplicación de trimetafán (B y D). En el trazo de la presión arterial aún se observan variaciones atribuibles a ondas vasomotoras de distinto nivel, mientras que, en D las oscilaciones correspondientes a la fluctuación del intervalo R-R han disminuido notablemente. Modificada de Zhang y cols. (2002).

Ondas Hering-Traube

Las ondas de segundo orden se denominan Hering-Traube, las cuales están asociadas a la frecuencia respiratoria (figura 4). Dichas fluctuaciones fueron observadas por primera vez por Hales (1733). Estas ondas se deben al efecto de la respiración en el ciclo cardiaco por medio de la actividad parasimpática en el nervio vago, la cual regula la frecuencia cardiaca (Szidon, Cherniack, & Fishman, 1969; Elghozi, Laude, & Girard, 1991; Brown, Beightol, Koh, & Eckberg, 1993). Dicha respuesta vagal es desencadenada por el reflejo de los receptores torácicos a estiramiento durante la respiración (Dick & cols., 2015) y la modulación de los centros respiratorios en el tallo cerebral por medio de neuronas catecolaminérgicas (Moraes & cols., 2017). Es gracias a la distensión y contracción de la caja torácica, que ocurre una descarga de acetilcolina por el nervio vago, disminuyendo la frecuencia y fuerza de la contracción cardiaca durante la expiración (Polosa, 1984; Cevese & cols., 1995). Debido a esto, la presión arterial disminuye (Figura 4).

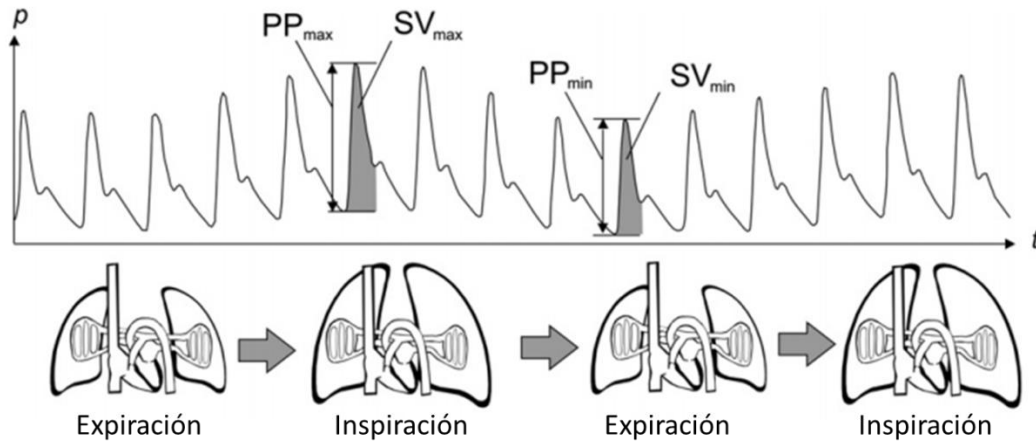
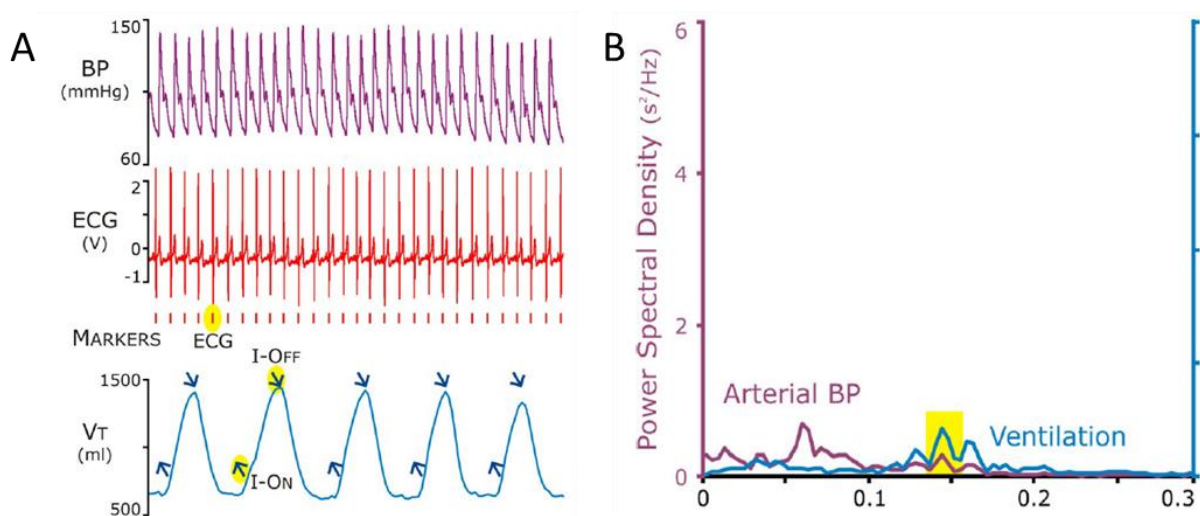


Figura 3: Cambios en la presión arterial a lo largo del ciclo respiratorio. En la parte superior se muestra el registro de la presión arterial. PP_{max} corresponde al máximo valor obtenido para la presión de pulso, SV_{max} es el volumen máximo, mientras que PP_{min} y SV_{min} corresponden a los mínimos. Se puede observar durante la expiración un descenso en la PA y el aumento durante la inspiración. (Hofer & Canesson, 2011)

Durante la inspiración la presión sanguínea dentro de los ventrículos aumenta como resultado de la expansión torácica, lo que permite un mayor retorno venoso (Bowers & Murray, 2004). Asimismo, se ha corroborado que las ondas Hering-Traube tienen un origen respiratorio y no por los cambios en el ciclo R-R, o en la resistencia vascular periférica (Zhang & cols., 2002; Hofer & Canesson, 2011; Eckberg & cols., 2016).

Figura 4: A.) Trazos de presión arterial, electrocardiograma y volumen torácico. Se observan las ondas R-R y las Hering-Traube en morado. El electrocardiograma (ECG) y sus respectivas onda R están pareadas a las ondas R-R mientras que las ondas Hering-Traube están pareadas con los cambios en el volumen torácico debidos a la respiración. En B se observan la densidad los espectros de frecuencia para la presión arterial (morado) y la respiración (azul). La presión presenta un pico en 0.06 Hz correspondiente a la frecuencia cardiaca.



Adicionalmente se observa un incremento en la densidad espectral de ambas señales en torno a los 0.15 Hz correspondiente a la frecuencia respiratoria. Modificada de Dick y cols. (2015).

Adicionalmente, se ha observado que en ratas denervadas en el seno aórtico, la presión arterial se mantiene dentro del rango normal. En dicho modelo, a pesar de la ausencia de la respuesta de los baroreceptores arteriales, la regulación simpática mediada por la respiración continúa de forma estable. Debido a dichos hallazgos, se infiere que el sistema respiratorio debe estar implicado de forma directa en el origen de las ondas Hering-Traube (Figura 6) (Amorim & cols., 2017).

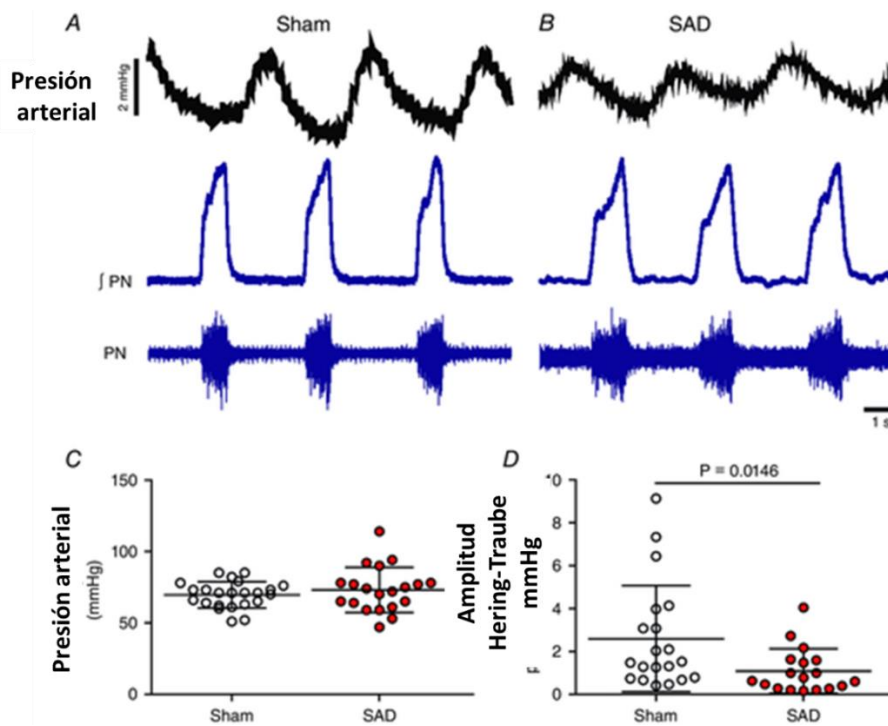


Figura 5: Efecto de la denervación del seno aórtico en las ondas Hering-Traube. A: Registros en rata control (Sham) correspondientes a la presión arterial, la integral del electroneurograma del nervio frénico y la actividad en crudo de dicho nervio. B: Registro correspondiente a las señales anteriores en rata con denervación del seno aórtico (SAD). C: promedios de la presión arterial en ambos grupos. D: Amplitud de las ondas Hering-Traube en ambos grupos, mostrando una disminución significativa en las ratas SAD. Modificada de Amorim & cols. (2017).

Ondas de Mayer

Las ondas vasomotoras de tercer orden fueron descritas por primera vez en 1876 por Sigmund Mayer y actualmente se definen como aquellas oscilaciones en la presión arterial que son más lentas que la frecuencia respiratoria (Julien, 2006). Las ondas de Mayer corresponden a la activación de los sistemas simpático y parasimpático los cuales actúan de acuerdo a oscilaciones en los reflejos barorreceptores y quimiorreceptores del sistema vasomotor, por lo que las arterias se contraen y relajan de forma rítmica (Kaminski, Meyer, & Winter, 1970; Sugita & cols., 2010) a la par que el corazón responde a dichas aferencias en el nodo sinusal (Saul, Rea, Eckberg, Berger, & Cohen, 1990).

Las ondas de Mayer se han observado en diversas especies. Algunos de los animales donde se han registrado estas ondas son: gatos y perros (0.05-0.15 Hz) (Szidon, Cherniack, & Fishman, 1969), conejos (0.3 Hz) (Janssen, Malpas, Burke, & Head, 1997), ratas y ratones (0.4 Hz) (Brown, Brown, Patwardhan, & Randall, 1994), denotando en todos los casos una estabilidad inter-especie en su frecuencia. En humanos, las ondas de Mayer se han caracterizado con una frecuencia de aproximadamente 0.1 Hz, sin depender de género, edad o postura en sujetos conscientes (Julien, 2006).

Cevese y colaboradores (2001), propusieron el origen simpático de las ondas de Mayer por medio de una respuesta vagal mediada por los barorreceptores previamente mencionados. En su trabajo, Cevese y colaboradores inhibieron la actividad baroreflexora por medio de un bloqueo de adrenoreceptores alfa en las células efectoras sino-atriales al administrar urapidilo, lo que disminuyó la amplitud y frecuencia de las oscilaciones con una frecuencia de 0.1 Hz (Figura 7). Asimismo, se observó la recuperación de la presión arterial y frecuencia cardíaca a sus valores normales después de la administración de angiotensina II, pero no las oscilaciones lentas (ondas de Mayer).

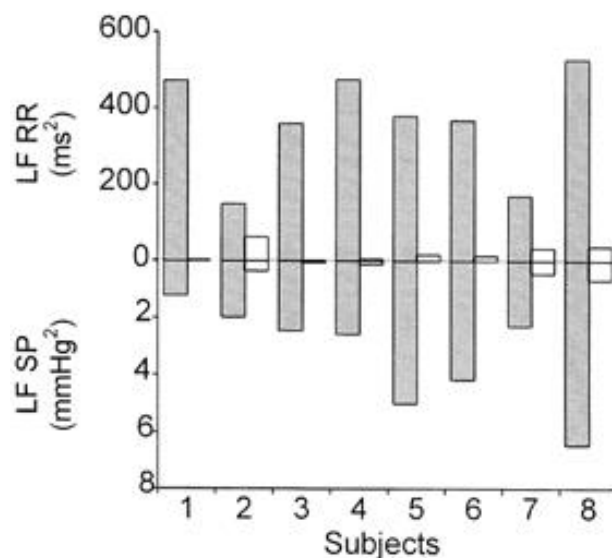


Figura 6: Poderes espectrales de baja frecuencia (0.1 ± 0.01 Hz) del intervalo R-R y la presión sistólica en 8 sujetos. En gris se observan los registros realizados en condiciones control, mientras que en blanco aquellos obtenidos durante el bloqueo de adreno-receptores alfa. Durante el tratamiento farmacológico, las oscilaciones lentas (ondas de Mayer) se ven anuladas o disminuidas de forma significativa. Ello apunta al origen simpático de las ondas de Mayer. Modificada de Cevese & colaboradores (2001).

Con base en dicha evidencia experimental, se ha sugerido el uso de las ondas de Mayer para la estimación de la actividad simpática, así como posibles afectaciones en dicho sistema (Raphan & cols., 2016). A pesar de que se han realizado diversos estudios sobre las ondas de Mayer, aún no existe un modelo unificador sobre el origen y función de estas ondas vasomotoras (Julien, 2006).

Trabajos anteriores del laboratorio de Neurofisiología Integrativa midieron la amplitud promedio de las ondas de Mayer en los gatos descerebrados, encontrando una duración promedio de 21.1097 ± 5.6421 segundos y una amplitud promedio de 42.8953 ± 13.9520 milímetros de mercurio. Dichas medidas fueron obtenidas a partir

del registro y análisis de 172 ondas de Mayer obtenidas por medio de un transductor de presión con una cánula inserta en la arteria carótida común de los animales. Por añadidura, fue calculada la frecuencia promedio de dichas ondas, siendo esta de $0.0474 \pm .1772$ Hz (Romero Vaca, 2017).

Aunque se ha reconocido la importancia de las ondas de Mayer y sus efectos fisiológicos, el estudio en de dichas ondas vasomotoras se ha realizado de forma sistémica, dejando abierta la interrogante sobre la dinámica de dichas fluctuaciones de la presión arterial de forma local y su posible diferencia con la aquellas de la presión sistémica. Consiguientemente, surge la interrogante sobre el posible significado fisiológico de una posible desviación entre las ondas de Mayer registradas en dos puntos en un mismo sujeto.

Eventos neuro-vasculares

Los eventos neuro-vasculares son una condición médica dónde el funcionamiento, integridad y supervivencia del tejido nervioso se comprometen debido a una insuficiencia en el sistema circulatorio (Ulloa-Alday, Cantú-Ibarra, Melo-Sánchez, & Berino-Pardo, 2015). Los eventos neuro-vasculares, pueden ocurrir tanto en el cerebro como en la médula espinal, con una incidencia del 98 y 2% correspondientes (Vargas, y cols., 2015).

Dentro de estos eventos neuro-vasculares, también conocidos como infartos, se pueden clasificar dos categorías dependiendo de la causa siendo estas dos de tipo isquémico y de tipo hemorrágico (Figura 8). Los infartos de tipo isquémico se deben a una interrupción en el suministro sanguíneo mientras que los de tipo hemorrágico se deben a la ruptura de tejido vascular. Un evento neuro-vascular de tipo isquémico puede devenir en uno de tipo hemorrágico (Donnan, Fisher, Macleod, & Davis, 2008). Adicionalmente, los infartos hemorrágicos se pueden subdividir en las siguientes categorías en función del sitio donde se crea el hematoma: hematomielina, hematomas subdurales, hematomas epidurales y hemorragia subaracnoidea (Sánchez Arjona, González Pérez, & González Marcos, 2007).

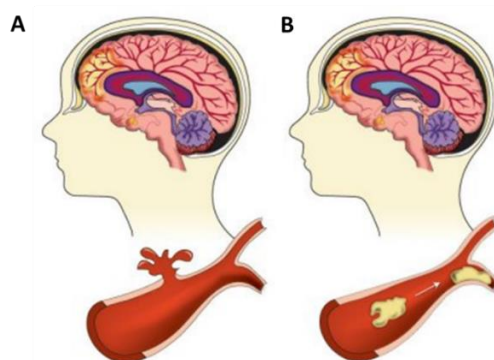


Figura 7: Tipos de infartos. A: infarto de tipo hemorrágico donde la insuficiencia sanguínea se debe a la ruptura de un vaso. B: infarto de tipo isquémico donde el

flujo sanguíneo se ve comprometido por la obstrucción de un vaso. Modificada de U.S. Department of Health & Human Services (2018).

Isquemias espinales

En los infartos espinales, las condiciones patológicas ocurren dentro de la médula espinal o en los vasos sanguíneos que la suministran de sangre. Los infartos espinales son relativamente raros, acumulando solamente entre el 1-2% de todos los casos de patologías neurovasculares (Vargas, y otros, 2015). Debido al relativo bajo número de casos y su dificultad de diagnóstico, su prevalencia no está bien caracterizada y su pronóstico tiende a ser poco favorable para los pacientes. Los efectos de un infarto espinal pueden ir desde molestias en la región del infarto, parálisis, fallas sistémicas e incluso la muerte (Nardone & cols., 2016).

Se han detectado diversas causas para el origen de las isquemias espinales en poblaciones infantiles como en adultas. En los casos pediátricos, la causa principal son malformaciones cardíacas o trauma (Vargas & cols., 2015), mientras que en los adultos la causa principal son los ateromas, aunque también pueden ser desencadenados por aneurismas torácicos-abdominales, embolias, hipotensión, hernias, malformaciones arterio-venosas (Novy, Caruzzo, Maeder, & Bogousslavsky, 2006), descompresión debido al buceo (Kamtchum & cols., 2014), coagulopatías, anemia falciforme (Márquez, Granados, & Castillo, 2012), traumatismo (Pearn, y otros, 2017), y el uso de cocaína (Gorelik & Tampieri, 2014).

Diagnóstico y tratamiento de eventos neurovasculares.

Debido a que las patologías de este tipo son una causa mayor de muerte e incapacidad a nivel mundial, las lesiones cefálicas han sido ampliamente estudiadas. (Canazza, Minati, Boffano, Parati, & Binks, 2014), Para el estudio y detección de los eventos vasculares se emplean técnicas tales como angiotomografías, ultrasonidos Doppler, tomografías por emisión de positrones, pero se reconoce como la mejor herramienta para su diagnóstico a la resonancia magnética funcional (fMRI). Aun empleando fMRI, se corre el riesgo de no detectar de forma oportuna el infarto como en el estudio de Novy y colaboradores (2006), donde sólo se pudo observar la isquemia espinal en un 67% de los casos.

Otro inconveniente que poseen los métodos actualmente disponibles para la detección de eventos vasculares y es el tiempo que requiere la toma y procesamiento de imágenes. Esto se vuelve especialmente importante en este tipo de patologías, donde el tiempo y la precisión en el diagnóstico son factores determinantes para la prognosis del paciente (Novy, Caruzzo, Maeder, & Bogousslavsky, 2006).

Weidaeur y colaboradores (2002) reportaron la dificultad de diagnosticar un infarto espinal por medio de la resonancia magnética funcional debido a la poca absorción de gadolinio por parte del tejido neural. Dicha absorción aumenta con el paso del tiempo a expensas de poder ofrecer un tratamiento oportuno (Iseli, Cavigelli, Dietz, & Curt, 1999; Nedeltchev & cols., 2004). Aún más, los equipos de vanguardia tales como tomógrafos y resonadores magnéticos que permiten la detección de estas patologías no están a disposición de la mayoría de la población (Canazza, Minati, Boffano, Parati, & Binks, 2014).

A pesar de la importancia clínica que tienen los eventos neuro-vasculares en la médula espinal, estos casi no han sido estudiado y presentan un rezago en

comparación con el estudio de los eventos de dicho tipo en el cerebro (Serra Valdés & Fabra Aquirre, 2013).

El tratamiento para los eventos neuro-vasculares varía dependiendo el sitio de lesión, la extensión y el paciente. A pesar de dichas variables, los lineamientos actuales recomiendan el uso de fármacos anti-plaquetas, cortico-esteroides, terapia anti-coagulante o una combinación de estas. Algunos de los tratamientos propuestos por medio de estudios pre-clínicos son: prostaglandinas, antagonistas serotoninérgicos, moduladores de pH, precursor proteico A4, vasodilatadores, entre otros (de Haan, Kalkman, & Jacobs, 2001; Cox, Varma, & Banik, 2015).

En los casos de eventos neurovasculares en la médula espinal no se han realizado una gran cantidad de estudios, pero se recomiendan los mismos tratamientos previamente descritos. Recientemente se propuso el drenado de líquido cerebroespinal y el aumento de la presión arterial para aumentar la tasa de perfusión a lo largo de la médula espinal (Strohm, John, & Hussain, 2018).

Fotopletismografía

La fotopletismografía (PPG), de los vocablos *–foto-* luz; *–plethysmo-* volumen; y *–graphos-* aparato que hace una gráfica, es una técnica óptica no invasiva para determinar la actividad hemodinámica subyacente en un tejido blanco. Al iluminar un tejido con un haz de luz, el componente fotodetector es capaz de estimar información funcional o estructural del tejido al ver los cambios en la intensidad de la luz que llegan a este. Actualmente el principal uso de los fotopletismógrafos es en los oxímetros, dispositivos que permiten conocer la saturación de oxígeno en la sangre.

El funcionamiento del fotopletismógrafo se basa en dos fundamentos básicos: la capacidad de la hemoglobina presente en la sangre para absorber de forma diferencial la luz roja en función del gas al que se encuentra conjugada (Barker, 2002) y en los cambios volumétricos en el tejido vascular asociados a las ondas vasomotoras siendo esto una referencia a la Ley Beer-Lambert.

Hemoglobina

La hemoglobina es una metalo-proteína encontrada en los eritrocitos. En los gatos, la hemoglobina está compuesta por 4 subunidades: 2 subunidades α y dos subunidades β (Kasten-Jolly & Taketa, 1984), cada una de las cuales tiene asociado un grupo hemo. Dicho grupo es un cofactor iónico ferrico, el cuál funciona como sitio de unión para el oxígeno (Linberg, Conover, & Shum, 2009). Las cuatro subunidades están dispuestas en forma de anillo.

La principal función de la hemoglobina es el transporte de oxígeno y dióxido de carbono en el torrente sanguíneo. Dependiendo del gas que este asociado a la metalo-proteína esta recibe el nombre de oxihemoglobina o desoxihemoglobina

(Boron & Boulpaep, 2012). Cada hemoglobina es capaz de transportar 4 moléculas de oxígeno o 2 de dióxido de carbono (Constanzo, 2007).

Dependiendo del gas asociado a la hemoglobina las propiedades ópticas de dicha molécula cambian (Figura 9). La oxihemoglobina tiene un pico de absorción lumínico cerca de los 990 nm, lo cual corresponde a la luz infrarroja; mientras que la desoxihemoglobina tiene dicho pico de absorción cerca de los 650nm (Barker, 2002).

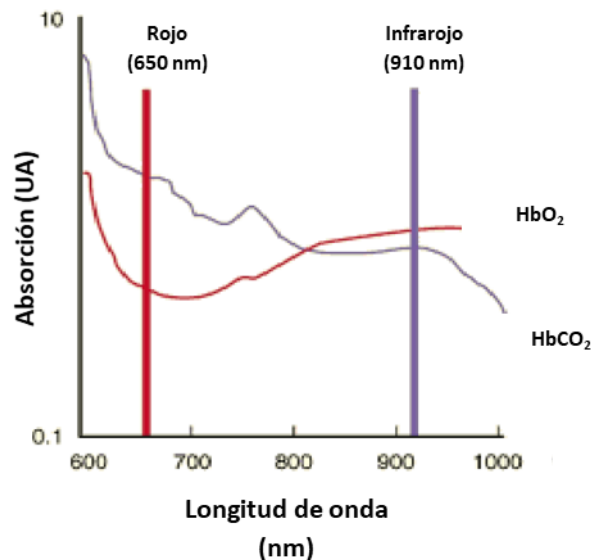


Figura 8: Absorción diferencial de la luz por parte de la oxihemoglobina (HbO₂) y la desoxihemoglobina (HbCO₂). Se observa que la HbO₂ absorbe una menor cantidad de luz roja (650nm) en comparación de la HbCO₂, mientras que lo contrario ocurre cuando la longitud de onda incrementa a 910nm. Esto explica el que la sangre arterial se vea de un color rojo, mientras que la sangre venosa sea de un color más oscuro y “azul”. Adicionalmente se observa que cerca de los 820nm existe una igualdad en la luz absorbida por ambas formas de hemoglobina, este fenómeno es conocido como punto asbestico. Modificada de Barker (2002).

Ley Beer-Lambert

El segundo principio fundamental para el funcionamiento de los fotopletismógrafos es la ley Beer-Lambert. Dicha ley postula la predictibilidad de la atenuación de un haz de luz al pasar por un medio uniforme. La intensidad de la luz (I) después de pasar por el medio puede ser calculada partiendo desde la intensidad original (I_o) por medio de la siguiente ecuación:

[1]

$$I = I_o e^{-a_n l_n}$$

Dónde a_n es el coeficiente de absorción de la luz por el material que atraviesa y l_n corresponde al grosor del material.

Dicha ecuación considera una fuente de luz constante, monocromática y con una propagación paralela; sin dispersión. Asimismo, el material es homogéneo en su composición y el recorrido de la luz no es modificado (Aoyagi, 2003).

Si se pretendiera implementar la Ley Beer-Lambert en tejidos biológicos, se encontrarían diversos problemas ya que el tejido no se compone de un solo material uniforme y la luz se dispersa a lo largo de su recorrido (Kennedy, 2015). Adicionalmente, existen componentes pulsátiles, por lo que su volumen y por ende el trayecto de la luz a través de este se ve modificado a lo largo del tiempo. A modo de resolver esto se ha planteado el siguiente modelo para la aplicación de dicha ley a tejidos (Figura 10).

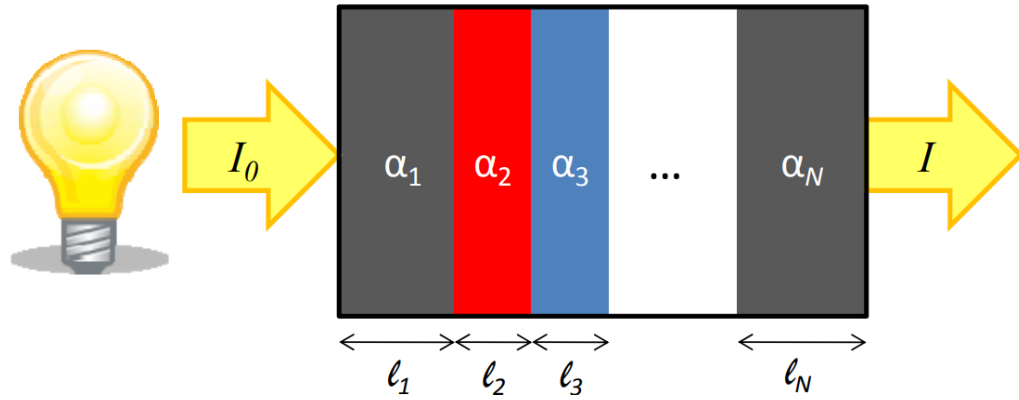


Figura 9: Modelo de la aplicación Beer-Lambert en tejidos biológicos considerando los diferentes materiales de los que se encuentran compuestos. I_0 : Intensidad de la luz proveniente de la fuente. $\alpha_1 - \alpha_N$: Absorción de la luz por las diferentes fases/materiales de los que se compone el tejido. $l_1 - l_N$: Grosor de cada material. I : Intensidad de la luz transmitida por el tejido. (Solà i Carós, 2011).

Tomando en cuenta dicho modelo, se puede expresar la intensidad de la luz después de pasa por un tejido biológico sin cambios volumétricos de la siguiente forma;

[2]

$$I = I_0 e^{-\sum_N \alpha_n l_n}$$

Pero en los tejidos existen cambios en el grosor debidos a los cambios volumétricos asociados al flujo sanguíneo por las arterias, por lo que es necesario considerar este tipo de componentes. Al llegar cada aumento en flujo sanguíneo debido a los pulsos cardiacos el volumen arterial aumenta por lo que el grosor de dicha capa en el tejido también lo hace. En consecuencia, la ecuación anterior debe ser modificada, de modo que esto sea considerado:

[3]

$$I = I_0(e^{-\sum_{n=1}^{N-1} a_n l_n})(e^{-a_b l_a}) = DCe^{-a_b l_a}$$

Donde DC es un valor constante determinado por las propiedades ópticas y geométricas de todos los componentes no pulsátiles del tejido y la intensidad de la luz aplicada, a_b es la absorción lumínica de la sangre, y l_a es el grosor de las arterias en el tejido en el momento de la medición.

A pesar de dichas modificaciones, la ecuación propuesta como modelo aún proporciona un panorama incompleto. Esto se debe a que no considera el efecto de la luz ambiental, la sensibilidad del fotodetector, artefactos generados por el acople piel-fotodetector, así como otros cambios no cardiogénicos que pueden ocurrir en el tejido (Solà i Carós, 2011). La aplicación de la ley Beer-Lambert solo aborda aquellas señales obtenidas por medio de la absorción diferencial de la luz a medida que esta atraviesa el tejido, dejando en un segundo plano el papel de otros fenómenos ópticos como la dispersión de la luz por el tejido (Nitzan & cols., 1998). A pesar de sus limitaciones y asunciones, el modelo presentado anteriormente es el más aceptado y empleado para explicar el funcionamiento de los fotopletimógrafos.

Longitud de onda de la fuente de luz

Como se ha descrito anteriormente, es sumamente complejo el diseñar un modelo para la absorción, refracción y dispersión de la luz por los tejidos biológicos. Aun así, los cambios en la luz al interactuar con el tejido pueden dar indicios su actividad, composición e integridad (Lomelí-Mejía & cols., 2009).

Tradicionalmente, las luces roja e infrarroja son empleadas en la fotopletimografía por la propiedad ópticas de las isoformas de hemoglobina (Barker, 2002). Asimismo, dichas longitudes de onda resultan ideales ya que son

capaces de atravesar fácilmente el tejido cutáneo, muscular y sanguíneo (Tamura & Maeda, 2017). A pesar de que se pueden emplear otras longitudes de onda, el rojo e infrarrojo son capaces de atravesar la sangre con mayor facilidad, ya que la luz en el espectro verde y azul es absorbida hasta siete veces más por dicho tejido (Volkov & cols., 2017).

Asimismo, Sviridova y colaboradores (2018), demostraron que las señales PPG obtenidas empleando luz verde tienden a ser poco claras debido a la gran cantidad de luz que es absorbida por las capas más superficiales de los tejidos.

Tomando en cuenta la absorción mínima de la luz roja por los tejidos no blanco para este trabajo y la capacidad de la sangre de absorberla (figura 11), así como la distancia que es capaz de viajar la luz por el tejido (figura 12) han hecho que la mayoría de los pletismógrafos desarrollados a la fecha empleen la luz roja (600-675nm).

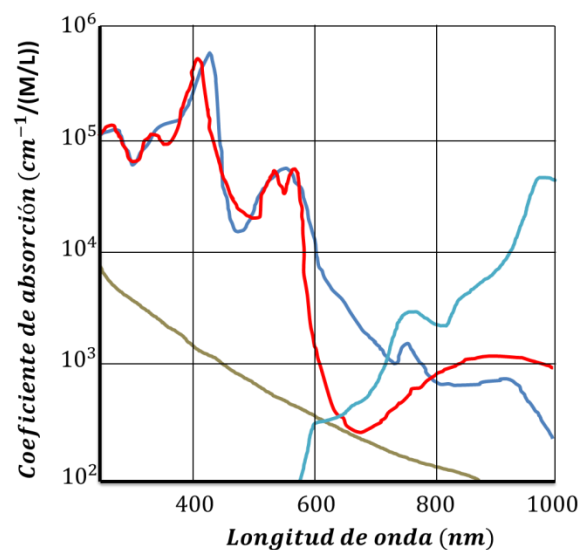


Figura 10: Coeficientes de absorción molar para distintas moléculas en tejidos biológicos. En rojo, oxihemoglobina; azul oscuro, desoxihemoglobina; café, melanina; azul claro, agua. Modificada de Sandell & Zhu (2011).

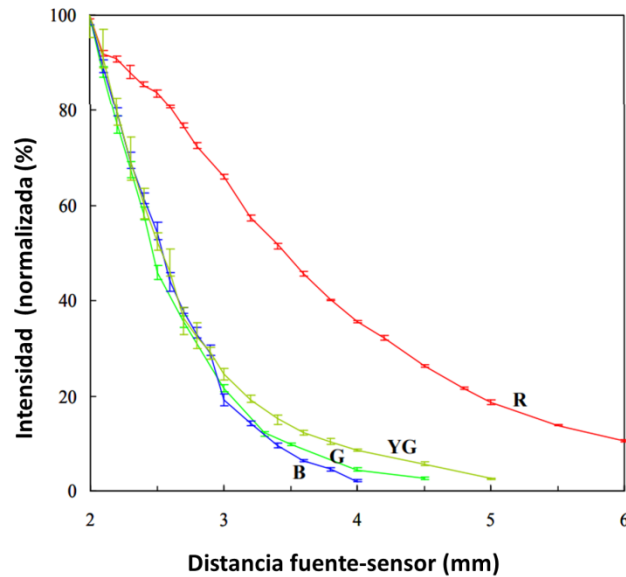


Figura 11: Intensidad normalizada de la luz captada por un sensor en función a la distancia que se encontraba de la fuente de luz y la longitud de onda empleada. R: rojo (634nm), YG: Amarillo-verde (571nm), G: Verde (543nm) y B: azul (463nm). Se observa que la luz roja preserva una mayor intensidad aún a mayor distancia. Modificada de Huang & cols. (2011).

Montaje experimental: fotopleetismógrafo

Como parte metodológica de la presente tesis hemos desarrollado un fotopleetismógrafo para adaptarlo a la médula espinal y poder cuantificar cambios en el flujo hemodinámico y de presión local. Dicho sistema fue aceptado como patente en trámite (Manjarrez y Romero-Vaca, 2019; véase (México Patente nº MX/E/2017/087473, 2017) (México Patente nº MX/E/2019/086482, 2019)). Adicionalmente, hemos publicado un artículo con las primeras aplicaciones en la médula espinal (Moreno-Castillo y cols., 2019). El desarrollo del sistema, también ha permitido desde los inicios de su desarrollo el avance en forma de tesis (Romero-Vaca, 2017, Meza, 2019). El fotopleetismógrafo espinal consiste de un acople opto-eléctrico que permite observar los cambios volumétricos en el tejido vascular a través de la fluctuación en la intensidad de la luz que atraviesa o es reflejada por el tejido en función al flujo sanguíneo.

Como se ha establecido (Moreno-Castillo y cols., 2019), los cambios en la cantidad de luz que atraviesa el tejido estudiado se encuentran asociados a la actividad hemodinámica. A modo de poder analizar dichas fluctuaciones en la intensidad lumínica, el presente montaje se compone de un diodo emisor de luz (LED) con una emisión de aproximadamente 650nm, un fotodiodo monolítico acoplado a un amplificador de trans-impedancia (OPT101, Texas Instruments) con pico de detección lumínica entre los 600 y 850nm, un generador de pulsos (Master8), un digitalizador de señales (Digidata) y una computadora (Figura 13).

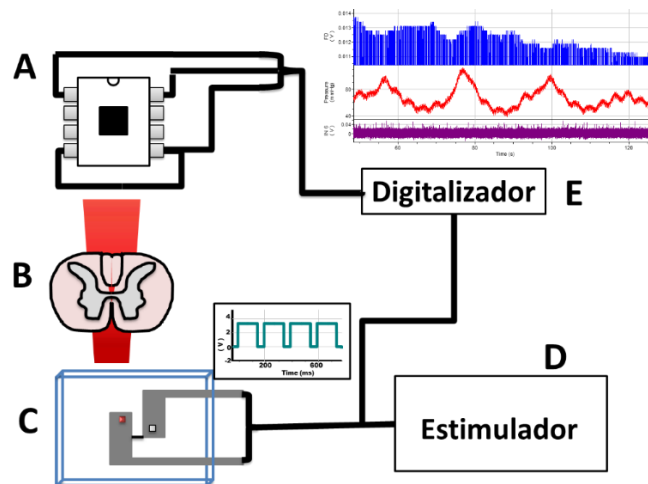


Figura 12: Configuración del montaje experimental. A: Fotodiodo OPT101, Texas Instruments. B: Tejido blanco. C: LED ($\lambda \approx 650\text{nm}$). D: Estimulador generador de pulsos. E: Digitalizador conectado a una computadora y ejemplo de registro.

Dicho montaje, tiene la capacidad de operar en dos configuraciones para la obtención de señales ópticas a partir de la modalidad de iluminación del tejido: por trans-iluminación y por reflejo de la luz. Durante la trans-iluminación, el tejido de interés se coloca entre el LED y el fotodiodo, de modo que la luz lo atraviesa. Mientras que en los registros por reflejo, el fotodiodo y el LED se colocan lado a lado, de modo que la luz detectada por el fotodiodo es la que es reflejada por el tejido (Romero Vaca, 2017).

El primer componente del montaje es la fuente de luz, la cual proviene de un LED, el cual se encuentra alimentado por el generador de pulsos, el cual envía pulsos cuadrados de 3.5V con una duración de 150ms y un intervalo de 50ms entre pulsos. Dicho intervalo, obtenido con base en la literatura del funcionamiento de los oxímetros y de forma experimental, permite la obtención de las señales de interés. El LED puede operar de manera continua sin provocar daños en el tejido. Dicho LED fue seleccionado debido a sus dimensiones (3x1.5x1mm), ya que durante la configuración para trans-iluminación del tejido, el LED se puede insertar entre la duramadre y la médula espinal la porción abdominal. De este modo, la luz se

proyecta de forma ventro-dorsal, trans-iluminando esta estructura. La longitud de onda se seleccionó debido a la facilidad con la que la luz roja atraviesa tejidos biológicos (Vincis, 2015).

El segundo componente del montaje, es el fotodiodo, el cuál es un semiconductor capaz de convertir la luz que incide sobre este en una corriente eléctrica de forma proporcional generando un efecto foto-eléctrico. Tanto la salida de la alimentación del LED como la salida del fotodiodo se encuentran conectados al digitalizador. De este modo, se puede tener un control sobre la actividad del LED y registrar los cambios en la intensidad de la luz detectada por el fotodiodo, dependientes de la actividad vasomotora y hemodinámica en el tejido.

Resultados obtenidos anteriormente.

En la tesis de licenciatura titulada: “Correlatos funcionales entre las ondas de Mayer y las señales ópticas intrínsecas de la médula espinal del gato descerebrado” (Romero Vaca, 2017), se implementó por primera vez el montaje previamente descrito. En dicho trabajo, se trans-iluminó la médula espinal en los segmentos L5-S1 de gatos a los que se les realizó una descerebración precolicular-postmamilar. Dichos registros se realizaron en condiciones control, donde el sujeto experimental no exhibía actividad electroneurográfica correspondiente a locomoción o rascado. A partir de dichos registros, se aislaron y analizaron 172 oscilaciones de tercer grado en la presión arterial y su correspondiente en la señal fotopletismográfica, obteniendo un valor de correlación de 0.7147 ($p < 0.001$). DE dicho estudio, se concluyó que existe una fuerte correlación entre las señales fotopletismográficas obtenidas por transiluminación de la médula espinal y la presión arterial.

Asimismo, en el trabajo publicado Moreno-Castillo y cols. (2020) estudiamos el acople entre las señales fotopletismográficas y las respuestas hemodinámicas en la médula espinal y tallo cerebral durante la activación funcional del generador

central de patrones de la médula espinal lumbar. En ambos paradigmas experimentales se obtuvieron coeficientes de correlación superiores a 0.74 y valores de $p < 0.05$ denotando una alta correlación entre las señales. Ello es evidencia de la relación funcional entre la señal fotopleetismográfica y las fluctuaciones en la presión arterial sistémica asociados a los cambios en la actividad metabólica del tejido neural subsecuentes a la generación de un patrón motor.

Planteamiento del problema

En México la primera causa de muerte son las enfermedades relacionadas al sistema circulatorio, tomando especial importancia los eventos neurovasculares al ser la segunda patología dentro de este rubro contabilizando él 5.2% de las defunciones totales en el país (Instituto Nacional de Estadística y Geografía , 2017). Asimismo, la Academia Nacional de Medicina reconoce las limitaciones que se tienen para diagnosticar y atender dichos padecimientos debido a “la necesidad de infraestructura compleja y costosa” (Martínez Ríos, 2014). Dicha problemática se extiende a un panorama global si se contabilizan los eventos neurovasculares de origen traumático y no traumático. Es preocupante el limitado número de tomógrafos y resonadores magnéticos, así como su costo (Carney, y cols., 2016); la dificultad de diagnóstico oportuno (Schweitzer, Niogi, Whitlow, & Tsiouris, 2019); y la relación entre el tiempo de diagnóstico y el deterioro del paciente.

Tomando en cuenta los antecedentes previamente descritos y los trabajos realizados en el Laboratorio de Neurofisiología Integrativa del Instituto de Fisiología de la BUAP, surgen las siguientes interrogantes: ¿Es posible estudiar las ondas de Mayer de forma local por medio de un foto-pletismógrafo? ¿La relación entre las ondas de Mayer sistémicas y locales puede ser utilizada para detectar y estudiar la fisiología de eventos neuro-vasculares, basados en la afectación de la dinámica sanguínea en el sitio?

Hipótesis

Las ondas de Mayer se pueden detectar de forma local en el cerebro y la médula espinal por medio de un foto-pletismógrafo, permitiendo evaluar la integridad del cerebro y la médula espinal a partir de la desviación de las señales obtenidas en comparación a las ondas de Mayer sistémicas detectadas en la arteria carótida.

Objetivo general

Obtener registros correspondientes a las ondas de Mayer, de forma local, por medio de un foto-pletismógrafo, y de forma sistémica, por medio de un transductor de presión. Ello con el fin de dilucidar el correlato funcional entre estas señales durante condiciones control y en modelos de eventos vasculares.

Objetivos particulares

- 1.- **Obtener, analizar, comparar y caracterizar** las señales correspondientes a las ondas de Mayer en la presión arterial obtenidas por un **transductor** de presión colocado en la arteria carótida del gato descerebrado, así como aquellas obtenidas por un **foto-pletismógrafo** en el dorso de la **médula espinal**.
- 2.- **Implementar un modelo de lesión** u oclusión vascular, consistente con la fisiopatología de un evento vascular en el sistema nervioso central.
- 3.- **Obtener, analizar, comparar y caracterizar las señales** correspondientes a las ondas de Mayer en la presión arterial obtenidas por un **transductor** de presión colocado en la arteria carótida del gato descerebrado, así como aquellas obtenidas por un **foto-pletismógrafo** en el dorso de la **médula espinal en el modelo de evento vascular**.
- 4.- **Obtener, analizar, comparar y caracterizar las señales** correspondientes a las ondas de Mayer en la presión arterial obtenidas por el **transductor** colocado en la carótida y aquellas obtenidas por el **foto-pletismógrafo** en la corteza del **cerebro** por medio de **refracción**.
- 5.- **Obtener, analizar, comparar y caracterizar las señales** correspondientes a las ondas de Mayer en la presión arterial obtenidas por el **transductor** colocado en la carótida y aquellas obtenidas por el **foto-pletismógrafo** en la corteza del **cerebro** por medio de **refracción** en el **modelo de evento vascular**.

Metodología

Consideraciones bioéticas

Todos los procedimientos fueron realizados en apego a los lineamientos de la guía para el uso y cuidados de animales de laboratorio del National Institute of Health (NIH) y la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 la cual está comprendida por las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Muestra

Se ocuparon como sujetos experimentales gatos (*Felis catus*) de sexo indistinto, con una masa entre 2.5 y 4 kilogramos, los cuales fueron proporcionados por el Bioterio Central “Claude Bernard” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. El presente trabajo conformó parte del proyecto 4319 registrado ante dicho departamento. Los sujetos experimentales fueron divididos en dos grupos de la siguiente forma: 5 gatos para registros en la médula espinal y 4 gatos para los registros realizados en la corteza cerebral.

Muestreo

El montaje para la obtención de las señales ópticas correspondientes a las ondas de Mayer locales, así como los electrodos de registro y el transductor de presión arterial en la arteria carótida se conectaron a un digitalizador, y la adquisición de datos, se realizó por medio del software Axoscope (Molecular Devices), con una

frecuencia de muestreo de 10kHz. Durante la adquisición de los datos no se empleó ningún filtro.

Anestesia y preparación previa a la cirugía

Dentro de los protocolos a realizar en el marco del presente trabajo, se realizaron dos series experimentales. En la primera de estas series, fueron registradas las ondas de Mayer por medio de transiluminación de la médula espinal. Durante la segunda serie, se realizó el registro de dichas ondas vasomotoras por medio del reflejo lumínico en la superficie del cerebro. Independientemente de la serie experimental, todos los protocolos quirúrgicos se realizaron en animales anestesiados.

En ambas series experimentales, se comenzó el procedimiento quirúrgico induciendo anestesia a los animales por medio de un vaporizador, el cual crea una mezcla gaseosa de isoflurano (Sofloran, PISA) al 3-4% y oxígeno al 96-97% dentro de una caja de inducción de 38 cm x 24 cm x 23 cm a temperatura ambiente. A modo de garantizar una atmosfera circulante dentro de la caja, esta cuenta con un orificio de inducción y otro de extracción por donde la mezcla gaseosa es dirigida a un filtro de carbón activado.

Una vez que los animales se encontraban anestesiados, sin tono muscular ni actividad refleja (Tasker, 2013), fueron retirados de la caja de inducción y se les colocó una mascarilla facial por la cual se continuó la administración gaseosa de anestésico. Una vez realizado dicho procedimiento, los animales fueron rasurados en las extremidades anteriores y posteriores, el cráneo, la porción abdominal del cuello y la región sacro-lumbar dorsal. Asimismo, se canuló la uretra para la recolección de orina.

En aquellos animales empleados para registrar las ondas de Mayer en el cerebro, la anestesia posterior al isoflurano de inducción fue realizada por medio de pentobarbital intravenoso. En los animales empleados para los registros en la médula espinal la anestesia se continuó por medio de la canulación de la tráquea y administración de la mezcla gaseosa previamente descrita. La anestesia fue descontinuada una vez que se garantizó la descerebración de los animales.

Control térmico

La temperatura de la preparación fue regulada a 37°C a lo largo del experimento por medio de una lámpara incandescente infrarroja y un colchón térmico colocado debajo del animal, los cuales fueron encendidos entre registros, de forma que dichos aparatos no influyeran en los registros.

Canulación de las arterias carótidas

Una vez concluidos con los preparativos para la cirugía, esta se continuó con la disección y canulación de las arterias carótidas. Durante esta fase, las arterias carótidas fueron separadas de los nervios vagos y se retiró el tejido conjuntivo de su superficie.

La carótida derecha fue disecada y se le colocó un hilo, el cual fue empleado posteriormente para su retracción durante la craneotomía y descerebración. Esto fue con el fin de reducir el flujo sanguíneo y por consiguiente el sangrado durante dichos procedimientos. Es imperativo denotar que dicho hilo no ocluyó la carótida derecha hasta que este fue estirado y posterior a su liberación el flujo sanguíneo regreso a la normalidad.

Una vez concluido el procedimiento de la carótida derecha, se inició el mismo procedimiento de disección en la carótida izquierda. En esta arteria, se colocó en el extremo rostral del segmento disecado una serie de nudos los cuales impedían el

retorno céfalo-torácico de la sangre, mientras que en el extremo caudal se colocó una pinza hemostática para evitar el flujo sanguíneo. Una vez realizada dicha preparación, se introdujo entre dichos puntos una cánula rellena de solución amortiguadora de pH (NaCOH_3 al 0.84%, PiSA, en solución glucosada al 5% PiSA) y se retiró la pinza hemostática. Dicha cánula se conectó a una bomba peristáltica (Mini-PUMP 7892 K05, Thomas Scientific), la cual administro una dosis de 1.5-5mL por hora de la solución previamente descrita.

De forma suplementaria a la cánula en la arteria carótida, se colocó una cánula en la vena radial como punto de administración de dextrano al 4.5% (Dextran, Sigma-Aldrich) en solución buffer de pH, así como solución glucosada para el mantenimiento de la preparación en condiciones fisiológicas.

Antes de proseguir con la disección, se administró dexametasona a una dosis de 2mg/kg por vía intravenosa para reducir los procesos inflamatorios subsecuentes a la cirugía. Adicionalmente se administró atropina (PiSA) en una dosis de 0.05mg/kg de forma subcutánea para disminuir la secreción de saliva y fluidos en el tracto respiratorio.

Registro de la presión arterial

El registro de la presión arterial sistémica se realizó por medio de la cánula inserta en la arteria carótida izquierda, la cual se encontraba conectada a un transductor de presión. A su vez, dicho transductor se encontraba conectado al digitalizador (Digidata).

Traqueotomía

Posteriormente, se realizó una traqueotomía por medio de un corte transversal al nivel del primer anillo cartilaginoso, donde se introdujo una cánula traqueal. Esta fue fijada y se le conectó una unión tipo T de plástico. A esta última se le conectó por un extremo el vaporizador, y por el otro, el filtro de carbón activado, manteniendo las mismas concentraciones de la mezcla gaseosa. La anestesia fue suspendida de forma gradual una vez que realizó la descerebración del animal.

Ventilación artificial y electrocardiograma

Se paralizaron a los sujetos por medio de la administración de bromuro de vecuronio (Bromurex, PiSA) al 4.8% de forma intravenosa y se administraron dosis suplementarias a lo largo del experimento conforme fueron necesarias, a modo de evitar el movimiento del animal (Wienecke, Enríquez-Denton, Stecina, Kirkwood, & Hultborn, 2015). Debido a la parálisis inducida y para preservar la preparación, los animales fueron conectados por medio de la cánula traqueal a un ventilador (6025 Cat/Rabbit Ventilator, Ugo Basile). La frecuencia respiratoria se fijó a 18-20 ciclos por minuto y el volumen tidal a 35cc (Côté, MacDonald, Meurs, & Sleeper, 2011).

Adicionalmente, se colocaron de forma bilateral electrodos en las articulaciones entre los cárpales y meta-cárpales de las extremidades anteriores y uno más en la articulación entre los meta-tarsales y falanges de la extremidad posterior izquierda (Boudreau-Conover, 2003). Dichos electrodos fueron conectados a un amplificador Grass (P511 AC Amplifier, Astro-Med Inc.) con salida al digitalizador para la adquisición del electrocardiograma. Dicho posicionamiento de los electros permite la obtención del ECG por medio de la derivación II al colocar el electrodo tierra en la extremidad anterior izquierda (Macintire, Drobatz, Haskins, & Saxon, 2012).

Disección de los nervios

A modo de poder tener un control sobre la actividad en la médula espinal, se registró la actividad electroneurográfica de los nervios tibial anterior y gastrocnemio medial por medio de su disección y colgado en electrodos bipolares de plata clorurada conectados a amplificadores Grass (P511 AC Amplifier, Astro-Med Inc.). Dichos amplificadores fueron conectados a su vez al digitalizador. El registro de la actividad electroneurográfica se realizó a modo de control, con el propósito de descartar aquellos registros donde el animal exhibía actividad motora eferente, ya que las propiedades ópticas del tejido neural se ven modificadas durante la excitación de este (Cohen, Keynes, & Landowne, 1972).

Craneotomía

Se retrajo la arteria carótida sin canular, de modo que el flujo sanguíneo a la región cefálica disminuyera. Posteriormente se realizó un corte sagital en la piel de la cabeza del animal. Se retrajeron los músculos del domo craneal y se realizó un trépano en uno de los huesos temporales. Se continuó con el corte del hueso, de modo que fueron retirados los huesos parietales desde su unión al postparietal hasta 5mm antes de la sutura ósea con el frontal en el eje rostro caudal y hasta su unión con los huesos escamosal en el eje lateral.

Una vez realizada la craneotomía, el animal fue transferido a un aparato estereotáxico (Narishige, SN-2N) donde fue fijado y se retiró la duramadre, de modo que el cerebro quedó expuesto para el registro de las ondas locales de Mayer por transiluminación o para la descerebración. El tejido fue protegido por medio de baños con aceite mineral al a 37°C.

Registros en el cerebro

En aquellos animales donde se realizó el registro de las ondas de Mayer locales en el cerebro, este fue expuesto con el mismo corte óseo descrito previamente. Sobre la superficie dorsal del lóbulo parietal, se colocó el fotodiodo en dirección ventral, mientras que el LED fue colocado en surco central con la cara emisora en dirección al hemisferio registrado. El fotodiodo fue colocado en el giro ecto-silviano, debido a que a lo largo de dicho giro discurre una gran cantidad de vasos sanguíneos. (Pakozdy, Angerer, Klang, König, & Probst, 2014). Posteriormente, se colocó la misma suspensión de agar teñida de negro entre los componentes del montaje y sobre estos, de modo que la única luz que incidió sobre el fotodiodo fuese aquella proveniente de la refracción y transiluminación del tejido.

Las ondas de Mayer sistémicas fueron obtenidas por medio del transductor colocado en la arteria carótida, mientras que las ondas de Mayer locales, fueron registradas por medio de la refracción de la luz, la cual fue detectada por el fotodiodo colocado sobre la superficie del cerebro.

En esta serie experimental, el nivel de anestesia fue monitoreado constantemente por medio de la ausencia o presencia de reflejos, y se fue administrando dosis suplementarias de pentobarbital intravenoso a intervalos regulares. Los animales no fueron paralizados y respiraban libremente a una frecuencia de 0.33-0.14 Hz.

Registros en médula espinal por transiluminación

Laminectomía y descerebración

A modo de exponer la médula espinal, se realizó una laminectomía en los segmentos espinales L4-S1. En primer lugar, se disecaron los músculos longuísimo y multifido de forma bilateral del dorso de los animales. Las posibles hemorragias

causadas por la disección fueron cauterizadas. Una vez expuestas las apófisis espinosas y transversas, estas fueron dislocadas y seccionadas con ayuda de gubias. Posteriormente se retiraron las láminas de las vértebras. Finalmente, se cortó la dura madre en dichos segmentos espinales de modo que la médula espinal quedase expuesta. En los casos en los que fue necesario, se empleó cera de hueso para contener los sangrados provenientes de las vértebras seccionadas. Se hicieron pocetas con la piel al margen del corte y fueron llenadas con aceite mineral a 37°C.

En los animales donde se registraron las ondas de Mayer en la médula espinal, se practicó una descerebración de tipo precolicular-postmamilar. La cavidad craneal fue rellena con malla hemostática SurgiCel® (Johnson & Johnson) y suspensión de Agar-Agar en solución salina. Para evaluar el éxito de la preparación, se evaluó la ausencia de rigidez del animal, así como la ausencia de reflejo pupilar (Sherrington, 1898). Una vez comprobadas estas condiciones, el animal se consideró descerebrado y se suspendió la administración de anestesia gaseosa y fueron conectados a un ventilador mecánico con una frecuencia de 0.33 Hz.

Registro de las ondas de Mayer locales en la médula espinal.

Para el registro de las ondas de Mayer en la médula espinal se colocó un diodo emisor de luz (LED), como el descrito anteriormente, entre la superficie abdominal de la medula espinal y la duramadre de modo que la luz fuese emitida hacía la superficie dorsal de la médula espinal. En el aspecto dorsal de la médula espinal se colocó el fotodiodo (OPT-101, Texas Instruments) en dirección hacia el aspecto ventral del animal, directamente sobre el LED, de modo que la luz atravesará la médula espinal e incidiera en este. Finalmente, la preparación fue aislada con una suspensión de colorante negro en agar-agar (Sigma) para evitar artefactos debido a la luz ambiental.

Igualmente, las ondas de Mayer sistémicas fueron obtenidas por medio del transductor colocado en la arteria carótida, mientras que las locales, por medio del fotodiodo colocado en el aspecto dorsal de la médula espinal.

Modelos de lesión

A modo de simular un evento neurovascular isquémico se ocluyó mecánicamente un vaso dorsal de la médula espinal empleando una pinza hemostática fina en los gatos descerebrados (Lang-Lazdunski & cols., 2000). Dicha oclusión fue mantenida hasta el final del experimento. Similarmente, en aquellos gatos donde se registraron las señales fotopletimográficas en la superficie del cerebro se creó un modelo de lesión isquémica al impedir el flujo sanguíneo por medio de oclusiones mecánicas y cauterizaciones de vasos sanguíneos en la superficie cortical (Canazza, Minati, Boffano, Parati, & Binks, 2014). En dichos animales se realizó la oclusión de tres vasos aledaños al sitio de registro (Sommer, 2017) con intervalos de 1 hora entre las lesiones. Cabe destacar que las lesiones fueron sumatorias y no reemplazos de la lesión previa.

Eutanasia

Una vez terminados los procesos experimentales, se realizó la eutanasia de los animales por medio de una sobredosis de pentobarbital sódico (6.13% Pisabental, PiSA) intravenoso, correspondiente a una dosis de 3 mL, por lo que se sobrepasó la dosis letal de 0.75mg/Kg (Tasker, 2013). Posteriormente, se confirmó la ausencia de pulso cardíaco por medio de auscultación estetoscópica y el cese de la presión arterial por medio del transductor. Dicho procedimiento se realizó en concordancia con las disposiciones previstas en la Guía para el uso y cuidado de animales de

laboratorio del National Institute of Health (NIH) así como la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

Análisis de datos

Una vez obtenidos los registros, estos fueron analizados fuera de línea utilizando el programa MatLab (versión 2018a, MatWorks). El script desarrollado para el presente trabajo fue capaz de importar las señales obtenidas, filtrarlas, obtener los valores máximos y mínimos, realizar espectros de potencia y análisis de correlación cruzada. Adicionalmente, el script puede obtener otros parámetros como la amplitud y duración tanto de las ondas de Mayer sistémicas como de la señal fotopletiśmográfica. Dichos parámetros también fueron incluidos en el análisis del presente trabajo.

Las ondas de Mayer locales presentadas en el presente trabajo, corresponden a la señal fotopletiśmográfica y son expresadas como los cambios en la cantidad de luz transmitida por el tejido. A modo de poder obtener dicha conversi3n, se realizó un registro colocando el LED y el fotodiodo a la misma distancia de aquella proporcionada por la médula espinal y aislándolos de la luz ambiental con la misma suspensi3n de agar previamente descrita. De este modo se pudo obtener una lectura que corresponde al 100% de la luz emitida por el LED que podría llegar al fotodiodo de no estar la médula espinal.

La seńal obtenida por el transductor de presi3n correspondiente a la cánula ubicada en la arteria car3tida, es expresada en milímetros de mercurio (mmHg) (Eckberg, & cols., 2016; Karemaker & DeBoer, 2017), ya que, al tratarse de registros continuos, no es el prop3sito del presente trabajo el determinar los valores de la presi3n arterial sist3lica o diast3lica.

Se realizaron pruebas de correlación cruzada entre las ondas de Mayer sistémicas y locales, tanto en las condiciones control para las señales obtenidas por ambos métodos (refracción y transiluminación), como para aquellas obtenidas al emplear los modelos de lesión previamente descritos.

Se empleó dicha prueba estadística, ya que los datos son continuos y tienen una distribución normal. Los niveles de correlación fueron clasificados de la siguiente manera: correlación muy alta ($r = 1.0-0.9$), correlación alta ($r = 0.89-0.7$), correlación moderada ($r = 0.69-0.5$), correlación baja ($r = 0.49-0.3$), nula correlación ($r = 0.29-0.0$). Las correlaciones negativas se clasificaron de la misma forma (Evans, 1996; Mukaka, 2012).

Posteriormente, se evaluó el valor de z-Fisher, partir de los valores r , modo que estos se pudieran promediar. Posteriormente, el valor de z promedio fue convertido en r , a modo de obtener la correlación promedio de las señales.

Resultados

Registros obtenidos en la médula espinal

En este primer apartado se abordarán los resultados obtenidos por medio de la colocación del dispositivo fotopletiśmográfico en su configuración de transiluminación de la médula espinal. Se descartaron aquellos registros donde se observaron artefactos, de modo que se mantuvieron los registros con las siguientes características (figura 14): sin cambios abruptos en la basal del PPG, sin artefactos en alguno de los registros, registros donde el animal presentara actividad motriz.

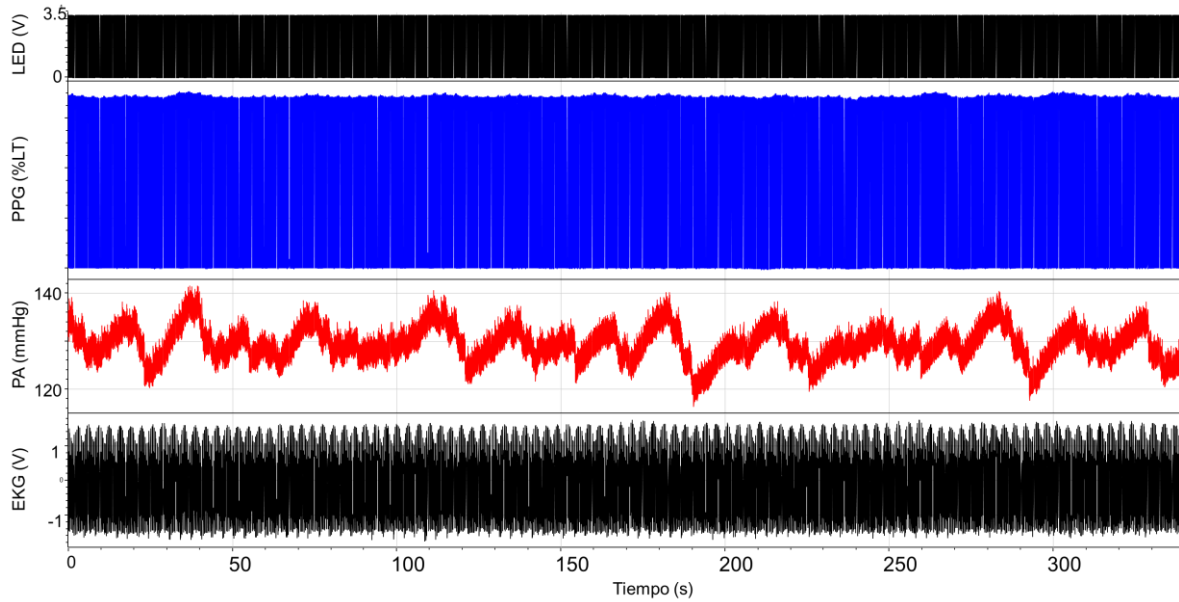


Figura 14: Ejemplo de un registro de 6 minutos que cumple con los criterios de inclusión. En la parte superior en negro se encuentra graficada la actividad del LED con las características previamente descritas. En azul la señal fotopletoislográfica cuya basal se encuentra en 0 y esta no oscila a lo largo del registro. En rojo: la presión arterial. Finalmente, en la parte inferior se encuentra el registro del electrocardiograma en negro.

Generalidades de los registros obtenidos

Siguiendo la metodología previamente establecida, se registraron la presión arterial; expresada de este punto en adelante como PA y en milímetros de mercurio (mmHg), y las señales fotopletoislográficas; expresadas como PPG y como su unidad, el porcentaje de luz transmitida (%LT) con respecto al registro control de la cantidad total de luz que detecta el fotodiodo al incidir el LED sobre este sin ningún obstáculo entre ambos.

De acuerdo a lo establecido en trabajos anteriores (Romero Vaca, 2017; Moreno-Castillo, y cols., 2020), el presente montaje es válido para la obtención de señales fotopletismográficas a partir de los cambios en la actividad hemodinámica del tejido neural trans-iluminado.

Retraso las señales PPG de la médula espinal y la PA.

En concordancia con los resultados obtenidos previamente, se observó un retraso entre la señal de la presión arterial y el PPG de **5.052 ± 0.667 segundos** en las oscilaciones lentas, correspondientes a las ondas de Mayer (figura 14). Se realizaron 3 experimentos con el fin de poder atribuir dicho tiempo de transmisión del pulso entre la arteria carótida y la médula espinal, así como la diferencia jerárquica en el árbol vascular de los dos sitios de registro. En dichos experimentos, se registró la presión arterial de forma simultánea en la arteria carótida y la arteria femoral, así como el electrocardiograma (figura 16), obteniendo un total de 275 ondas de Mayer.

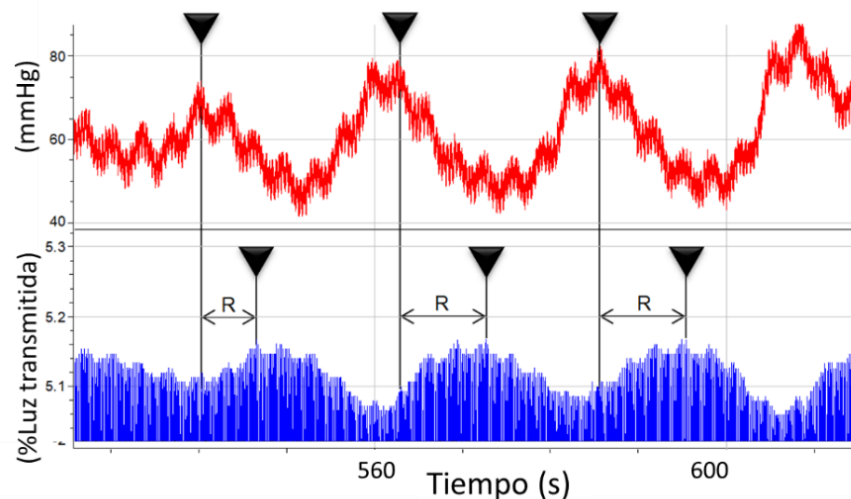


Figura 15: Ejemplo de un registro control de la presión arterial en la arteria carótida

(trazo rojo) y la señal fotopletoislográfica (azul). Se puede observar una concordancia entre las señales, así como el retraso entre ambas (R). Dicho retraso fue de 5.052 ± 0.667 segundos.

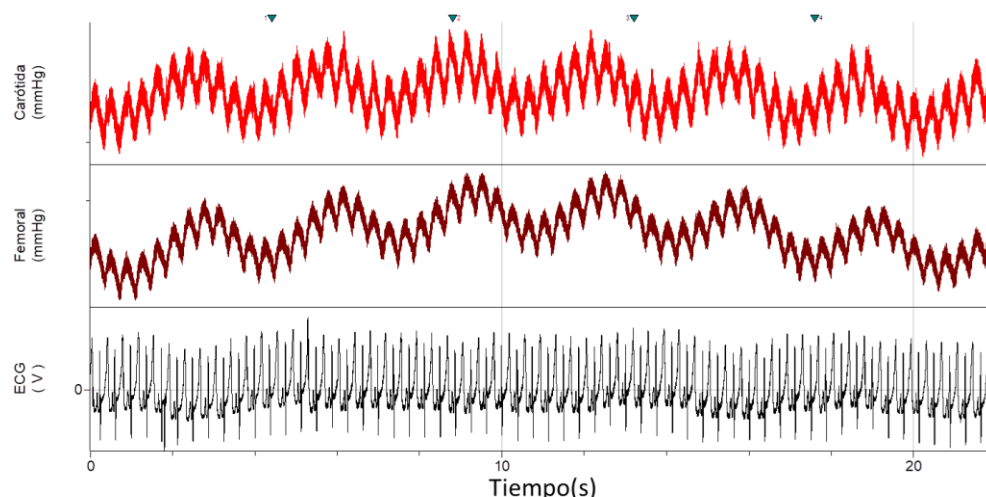


Figura 13: Registro de la presión arterial en dos puntos por medio de cánulas intra-arteriales. En rojo se observa el registro en la carótida; en marrón el registro en la arteria femoral; en negro el electrocardiograma. Entre ambas señales se pudo observar un leve retraso debido a la distancia del corazón de cada sitio de registro.

Al analizar el retraso entre los registros de la presión arterial medida en la arteria carótida y aquellos obtenidos de la arteria femoral, se observó un retraso de **0.101 ± 0.006 segundos.**

Los retrasos entre los registros de la arteria carótida y la arteria femoral fueron comprados empleando una prueba t. De esta forma, se obtuvieron los siguientes valores **$t = -18.986$, grados de libertad= 351, $P = <0.001$** , por lo que existe una **diferencia significativa** entre ellos. Con estos resultados se puede inferir que el retraso observado entre las señales fotopletoislográficas en la médula espinal y la presión arterial, medida en la carótida, no corresponde únicamente a la

distancia entre los sitios de registro, sino a las propiedades del tejido. Ello podría deberse mayoritariamente a la jerarquía en la vascularización de la médula espinal, ya que al reducir el lumen de las arterias a medida que derivan en arteriolas, la velocidad con la que la sangre se desplaza va disminuyendo de la siguiente forma:

$$Velocidad\ de\ la\ sangre = \frac{flujo\ sanguíneo\ (\frac{ml}{s})}{área\ del\ lumen\ (cm^2)}$$

(Munson, Young, Okiishi, & Huebsch, 2009)

Registros control en la médula espinal.

Durante los experimentos realizados en condiciones control, se registraron un total de **275 ondas de Mayer aisladas** de los registros de PA y PPG, las cuales cumplieron con los criterios de exclusión previamente descritos.

A pesar de que las ondas vasomotoras pueden ser segregadas a simple vista al tener un registro del ECG para las de primer orden, la frecuencia respiratoria restringida para las ondas Hering-Traube y la capacidad de determinar las ondas

Mayer como “aquellas oscilaciones en la presión arterial más lentas que la frecuencia respiratoria” (Julien, 2006), se realizaron espectros de potencia (figura 17) tanto de las señales obtenidas por el fotopletismógrafo en la médula espinal, como de aquellas obtenidas por el transductor de presión de la arteria carótida a modo de control. De dicha forma se pudieron caracterizar los tres tipos de ondas vasomotoras.

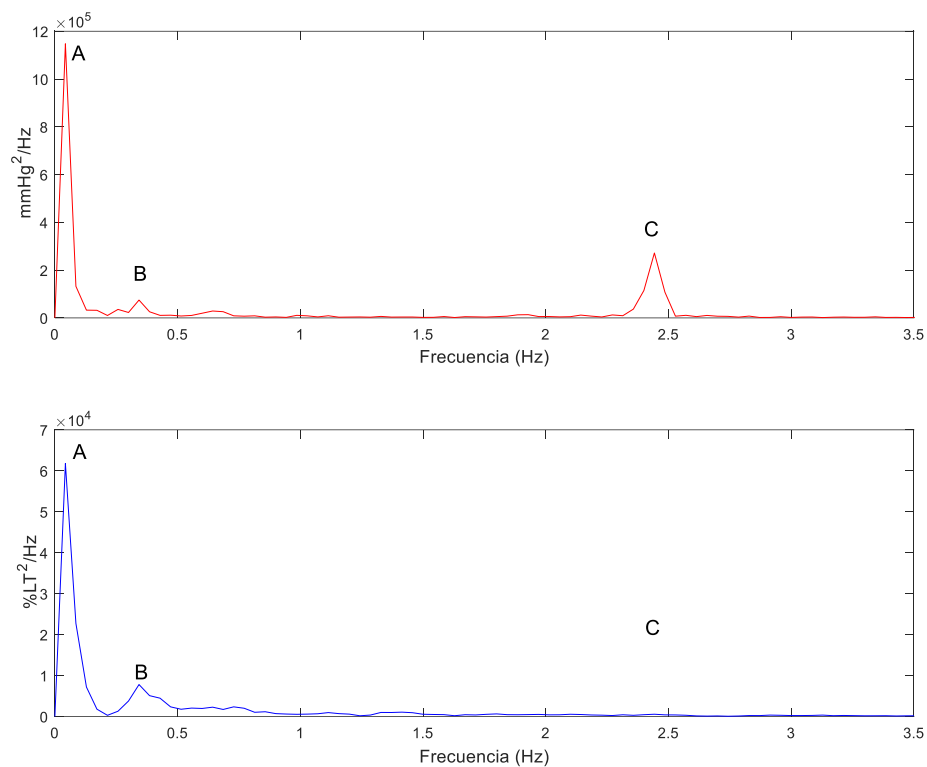


Figura 14: Espectro de potencia para una onda de Mayer (rojo) y su señal fotopletismográfica correspondiente (azul). Explicación de la figura a continuación.

Ondas de primer orden (intervalo R-R)

La frecuencia cardiaca fue calculada para cada registro, obteniendo una frecuencia promedio de 174 latidos por minuto ($F = 2.9$ Hz), lo cual entra dentro del rango fisiológico de los gatos (140-220 latidos por minuto; 2.33 - 3.67 Hz) (Brown & cols., 2007). Al calcular los espectros de potencia de los registros obtenidos por

medio del transductor se observó un aumento en la magnitud espectral entorno a los **2.6 y 3.2 Hz** (Figura 17; denotado con la letra C).

En contraparte, en el espectro de potencia del PPG no se observan los picos en dichas frecuencias. Esto se puede deber a la incapacidad del PPG en su configuración actual de detectar de forma precisa los cambios vasomotores asociados al intervalo R-R. Ya que al emplear luz pulsátil, los componentes más rápidos (ondas de primer orden) se ven segmentados, por lo que su detección es casi nula. Posteriores versiones del montaje experimental podrían tener el objetivo de mejorar su resolución temporal, de forma que sea posible el registro de las ondas vasomotoras de primer orden.

Ondas de segundo orden (Hering-Traube)

Los animales empelados para los registros espinales fueron paralizados con bromuro vecuronio (Bromurex, PiSA), por lo que requirieron ventilación mecánica. Dicha ventilación fue regulada entre 28 y 30 ciclos por minuto ($F = 0.3\text{-}0.33\text{ Hz}$). Se calcularon los espectros de potencia de las señales provenientes de la presión arterial, así como del fotoplefetismógrafo. Se encontró un aumento en la magnitud espectral de las frecuencias en dicho rango (Figura 17; denotado con la letra B). De esta forma, se pueden clasificar las oscilaciones con una frecuencia igual o similar a la del ventilador mecánico como ondas Hering-Traube, debido a su concordancia con la frecuencia respiratoria (Julien, 2006).

Ondas de tercer orden (Mayer)

Como en el caso de los otros dos tipos de ondas vasomotoras, se observó un aumento en la magnitud espectral de los registros corresponde a la banda de frecuencias entre 0.02 y 0.13 Hz (Figura 17: demarcado con la letra A). Al ser ondas

más lentas que la frecuencia respiratoria (0.3-0.33 Hz) se pueden clasificar como ondas de Mayer (Halliburton, 1919; Julien, 2006).

Resultados de trabajos anteriores (Romero Vaca, 2017; Moreno-Castillo, 2020) y del presente han demostrado una duración de las oscilaciones de 3° nivel para las señales obtenidas intra-arterialmente de **21.1097 ± 5.6421 segundos (0.03738 a 0.06466 Hz)**; y para aquellas obtenidas por el PPG de **21.0250 ± 5.4787 segundos (0.03773 a 0.06432 Hz)**. Dichas frecuencias entran el rango establecido en la literatura para las ondas de Mayer en el gato (Ead, Green, & Neil, 1952; Szidon, Cherniack, & Fishman, 1969)

Registros en el modelo de isquemia espinal.

A partir de los experimentos realizados, se registraron un total de **136 ondas de Mayer bajo condiciones isquémicas** a partir de los registros de PA y PPG. A estos registros se les realizaron los espectros de potencia al igual que a aquellos obtenidos en condiciones control para la clasificación de las ondas vasomotoras en sus tres niveles (figura 18).

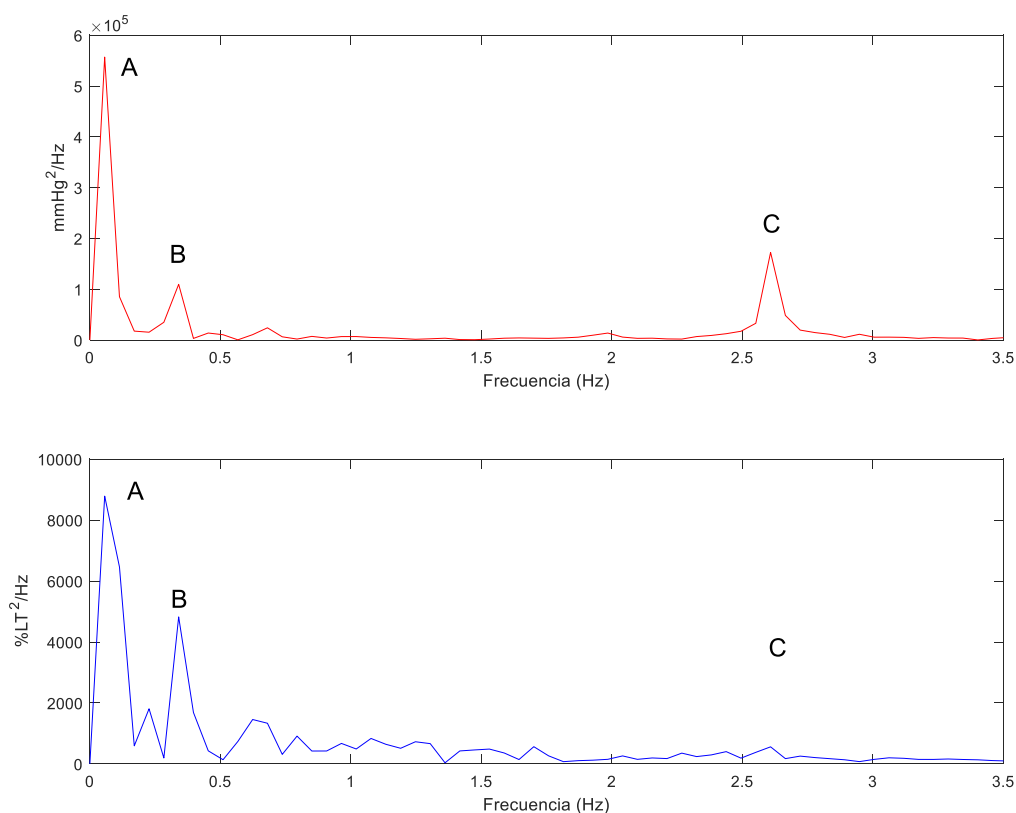


Figura 15: Ejemplo de los espectros de potencia realizados para los registros obtenidos posteriores a la oclusión vascular en la médula espinal. En rojo: espectro de potencia de la señal obtenida por el transductor de presión. En azul: espectro de potencia realizado para la señal fotopletiomográfica. La explicación de la figura se encuentra en párrafos subsecuentes.

Ondas de primer orden (intervalo R-R) en el modelo isquémico.

Nuevamente, en los espectros de potencia para las señales provenientes del transductor de presión arterial se observaron las oscilaciones rápidas (aproximadamente 2.0-3Hz), mientras que estas no se observaron en él. El rango de frecuencias encontradas en los espectros de potencia para el ciclo R-R se encontraba dentro de los parámetros fisiológicos y correspondió a la frecuencia cardiaca calculada.

Ondas de segundo orden (Hering Traube) en el modelo isquémico

Al igual que en los registros control, la frecuencia de bombeo del respirador mecánico fue de entre 28 y 30 ciclos por minuto ($F = 0.3-0.33$ Hz). Al realizar los espectros de potencia para los registros se observó tanto para aquellos provenientes del transductor de presión como para aquellos provenientes del fotopletoisógrafa un aumento en la magnitud espectral en dichas frecuencias (Figura 18; denotado por la letra B).

Ondas de tercer orden (Mayer)

Nuevamente, en los registros para ambas señales se encontró un aumento en la magnitud espectral entre los **0.0690 y 0.0403 Hz**. Dicha frecuencia corresponde a la duración de las ondas de Mayer medidas en el presente trabajo, las cuales están en concordancia con la literatura citada (Szidon, Cherniack, & Fishman, 1969; Romero-Vaca, 2017).

Comparación de los registros obtenidos en condiciones control y de isquemia espinal.

A lo largo de los experimentos se obtuvieron un total de 259 ondas de Mayer en registros control y 136 ondas de Mayer en registros posteriores a la aplicación del modelo de isquemia espinal. El resumen de dichos resultados se muestra a continuación:

	Control n=259	Modelo isquémico n=136
Duración del PPG (s)	21.338 ± 5.076	19.657 ± 5.172
Duración de PA (s)	21.334 ± 5.273	20.14 ± 5.144
Retraso entre las señales (s)	5.376 ± 2.365	4.978 ± 2.785
Amplitud de PA (mmHg)	19.308 ± 6.244	18.943 ± 5.064
Amplitud del PPG (%LT)	0.418 ± 0.0886	0.497 ± 0.210
Coeficiente de correlación entre PA-PPG	r = 0.729 p < 0.0001	r = 0.531 p < 0.0001
Comparación entre los coeficientes de correlación	p < 0.001; existe una diferencia significativa entre los coeficientes de	

	correlación entre el grupo control y el grupo isquémico.
--	---

Tanto los registros de las señales obtenidas en condiciones control, como aquellos obtenidos durante el modelo de lesión isquémica espinal, fueron sometidos a pruebas de normalidad Shapiro-Wilk. Dependiendo del resultado de dicha prueba se realizaron pruebas t-Student o Mann-Whitney, con la finalidad de poder comparar los datos obtenidos durante ambas condiciones experimentales. Nuevamente se tomó un valor de alfa igual a 0.05, para denotar la significancia de los valores obtenidos en las comparaciones.

Tanto en la **duración** de ambas señales y la **amplitud del cambio** durante una onda de Mayer en la **presión arterial**, se observó una distribución normal de los datos. ES por ello que se realizó la comparación de ambos grupos por medio de una prueba t-Student. Para todos esos parámetros se determinó la **inexistencia de una diferencia significativa** ($p < 0.05$ en todos los casos) entre los registros obtenidos en condiciones control y aquellos obtenidos durante el modelo isquémico.

Al examinar los **retrasos** entre las señales PPG y aquellas de PA, se determinó que estos valores no tenían una distribución normal. Debido a esto, se realizó una prueba Mann-Whitney para determinar si existía una diferencia significativa en el retraso entre las señales al comparar los dos tratamientos experimentales. Siguiendo dicha prueba se obtuvo una $T=21444.500$ y un valor de **$P=0.083$, por lo que no existe una diferencia significativa en el retraso presentado entre el grupo control y el grupo de la lesión.**

Por contraparte, se observó una **diferencia significativa en la amplitud del cambio** de las señales **PPG** ($p < 0.001$) entre el grupo control y el de lesión isquémica. Dichos resultados se encuentran representados en la Figura 19.

Asimismo, las figuras 20 y 21 ilustran la duración y el cambio en la amplitud de las señales durante los registros control y durante el modelo isquémico, denotando las tendencias de los grupos de datos a lo largo del tiempo.

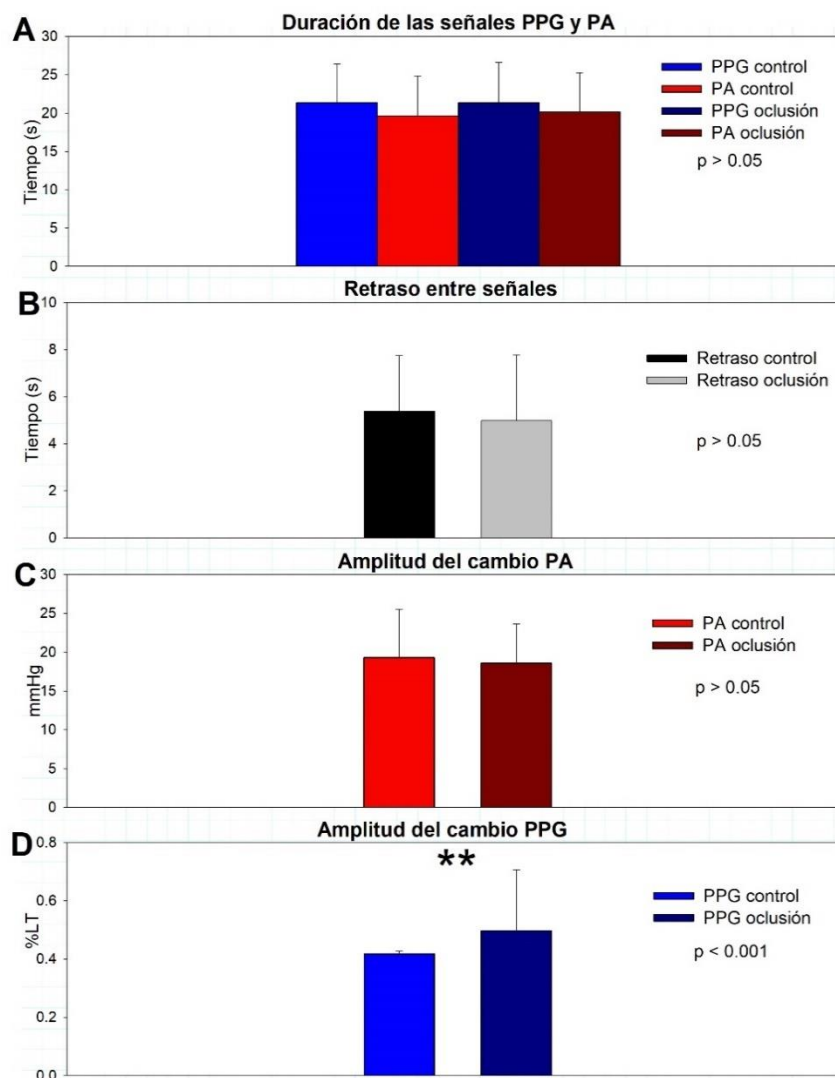


Figura 16: Gráficas de barra para los registros realizados en la médula espinal en condiciones control y de modelo isquémico. En A se encuentran graficados los tiempos de duración de las señales correspondientes al PPG control (azul claro), PA (rojo), PPG en el modelo isquémico (azul oscuro) y PA en el modelo isquémico (marrón) no hay diferencia

significativa entre estos valores. En B se muestran los tiempos de retraso entre señales en ambos tratamientos, no hay diferencia significativa. En C se grafica la amplitud del cambio de las señales provenientes de la presión arterial en cada tratamiento. No hay diferencia significativa. En D se muestra la amplitud del cambio del fotoplefetismógrafo en ambos grupos experimentales. Se observa una diferencia significativa ya que la amplitud del cambio es mayor en aquellos registros obtenidos en el modelo isquémico.

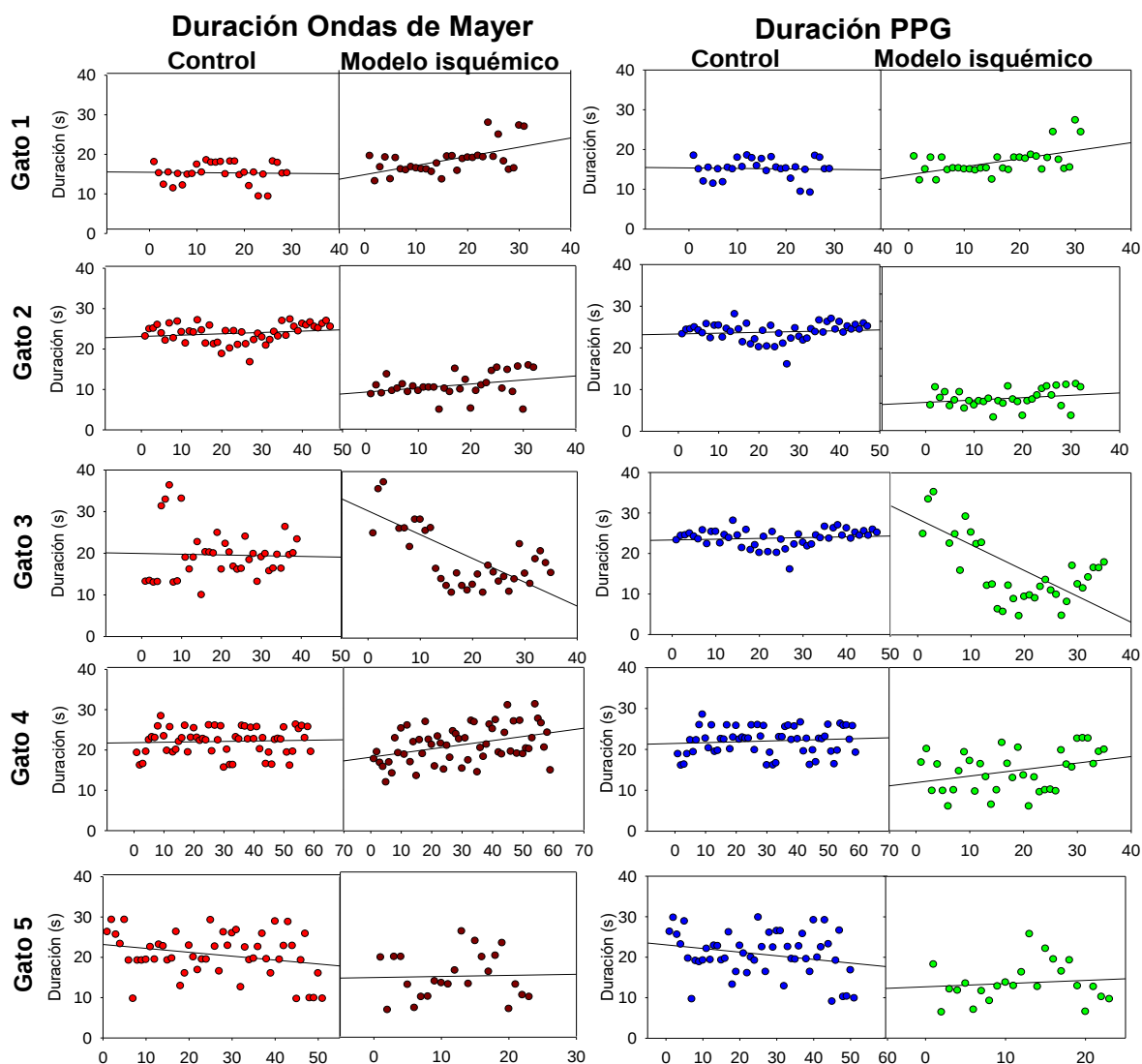


Figura 20: Duración en segundos de las señales obtenidas por el transductor de presión y el fotopleletismógrafo para condiciones control y del modelo isquémico. En el eje de las abscisas se encuentran los eventos registrados en orden cronológico, mientras que en el eje de las ordenadas se encuentra la duración en segundos (s) de dicha onda. Por fila se encuentran indicados los sujetos experimentales mientras que las columnas representan los datos de las ondas de Mayer y las señales fotopleletismográficas. En rojo: duración de registros de las ondas de Mayer en condiciones control; marrón: duración de los registros de las ondas de Mayer en el modelo isquémico; azul: duración de las ondas fotopleletismográficas en condiciones control; y finalmente en verde la duración de las ondas fotopleletismográficas obtenidas posteriormente a la oclusión del vaso sanguíneo en la médula espinal. En todos los casos se observa una alta concordancia entre la duración las ondas de Mayer con la duración de su contraparte fotopleletismográfica tanto en condiciones control como en el modelo isquémico.

Figura 21 (siguiente página): Amplitud del cambio para las ondas de Mayer y su señal fotopleletismográfica correspondiente en condiciones control e isquémicas. Nuevamente cada fila representa los datos obtenidos por sujeto experimental. En el eje de las ordenadas nuevamente están ubicados las ondas detectadas en orden cronológico. La primera columna muestra la amplitud del cambio en milímetros de mercurio de las ondas de Mayer, en tanto en la segunda columna se encuentran expresados los cambios en porcentaje de luz transmitida para las señales fotopleletismográficas. La concordancia entre los cambios de amplitud de las ondas de Mayer y su contraparte en las señales fotopleletismográficas es menor que aquella observada en la duración de las señales.

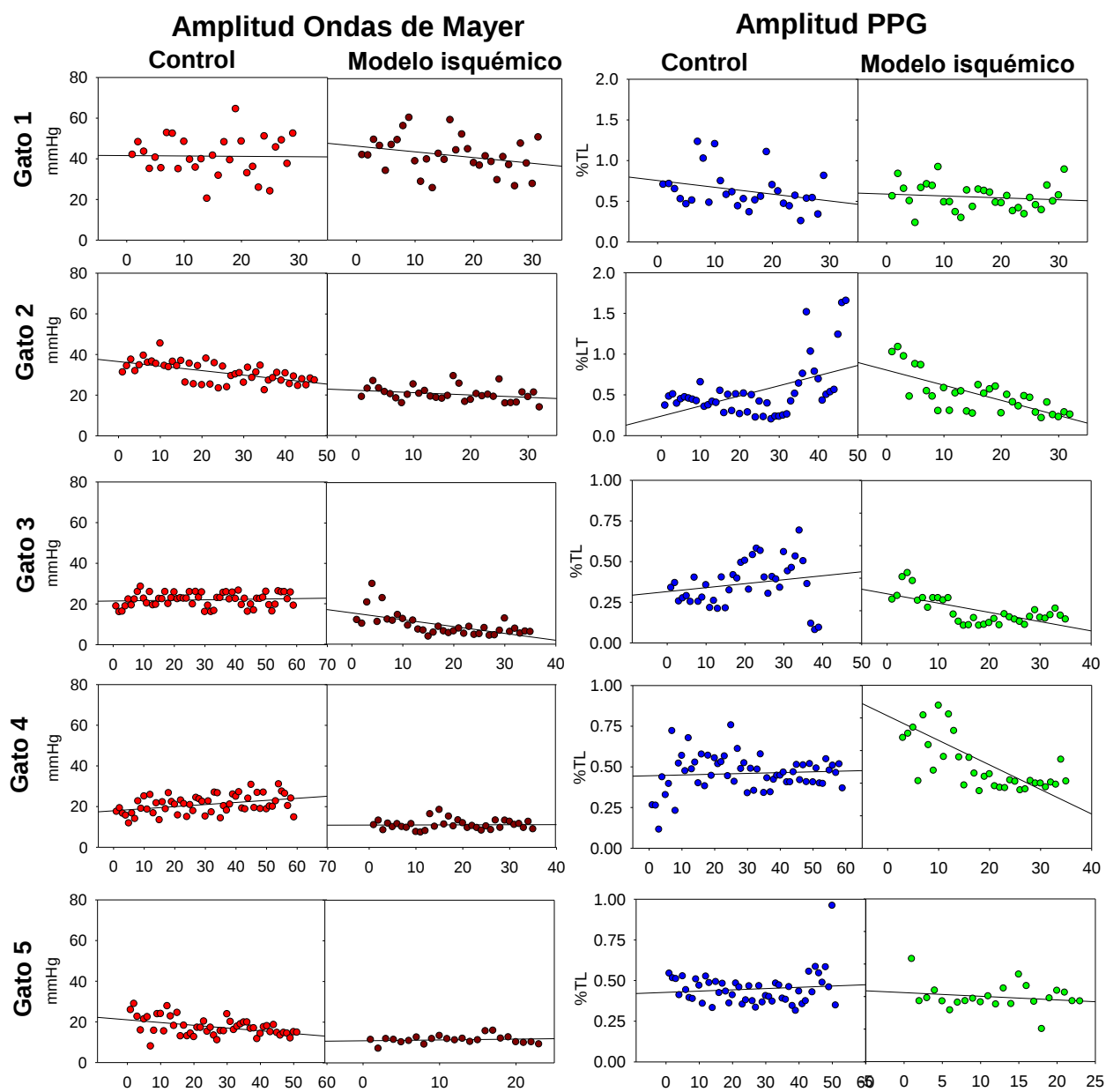


Figura 21. Descripción en la página anterior.

Coeficientes de correlación y comparación de estos entre grupos.

Para la obtención de los coeficientes de correlación cruzada promedio para cada grupo, se convirtieron los valores de r de cada par de señales en valores z' de Fisher. Posteriormente dichos valores z' fueron promediados. El valor z' promedio para cada grupo se reconvirtió en el coeficiente de correlación de Pearson. De esta forma se obtuvieron $r=0.729$ y $r=0.531$ para el grupo control y el grupo isquémico respectivamente. Los valores de correlación de las señales fotoplethysmográficas y sus contrapartes en la presión arterial para cada registro se expresan en la figura 22 mientras que el retraso promedio para cada sujeto experimental en condiciones control y de lesión isquémica

Con el objetivo de validar los valores r globales para ambos grupos de datos, se calculó el valor de p a partir de los coeficientes de correlación y el número de registros. En ambos casos $p < 0.000001$, por lo que ambos valores de r son significativos para sus respectivos grupos de datos.

Tomando en cuenta la clasificación de Mukaka (2012) la correlación para los **registros control** entra dentro de las correlaciones **altas**, mientras que aquella obtenida durante **el modelo isquémico** es una correlación **baja**.

Para poder comparar de forma cuantitativa los valores de r obtenidos para ambos grupos de datos y determinar la significancia de la diferencia entre ambos, se convirtieron los valores de r en z' . De esta forma se obtuvieron los siguientes valores: $z' = 0.592$ y $z' = 0.951$ para los registros de modelo isquémico y control respectivamente. Posteriormente, se empleó la siguiente fórmula para comparar dichos valores y analizar su posible significancia, Finalmente con dicho valor de z' se calculó el valor de p (Eid, Gollwitzer, & Schmitt, 2015):

$$z' = \frac{(z_1 - z_2)}{\sqrt{[\left(\frac{1}{n_1 - 3}\right) + \left(\frac{1}{n_2} - 3\right)]}} = 3.7808$$

El valor de **p** fue de **0.00007**, por lo que se rechazó la hipótesis nula. Debido a esto, se obtuvo como resultado que la **diferencia entre las correlaciones** de las señales obtenidas en condiciones **control** comparadas contra aquellas obtenidas de los **registros isquémicos** es **significativa**. Tomando en cuenta los análisis estadísticos realizados y sus resultados, se puede concluir que **el presente montaje** puede ser empleado para detectar lesiones isquémicas en la médula espinal por medio de transiluminación. De esta forma, es posible **registrar diferencias significativas entre las señales fotopletismográficas en el sitio de lesión isquémica y aquellas obtenidas de la presión arterial**.

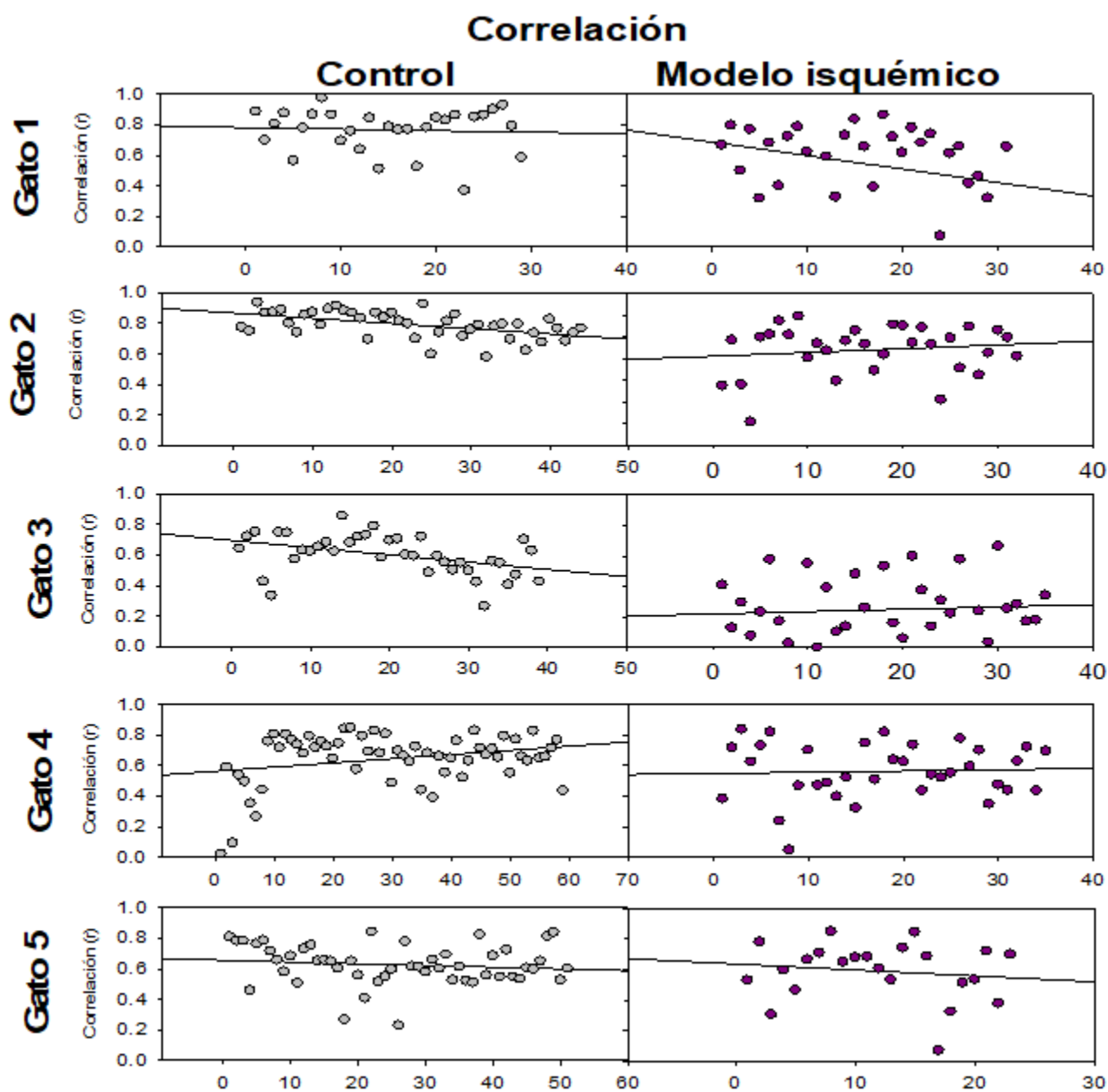


Figura 22: Valores de correlación para cada par ordenado de ondas de Mayer y señal fotoplethysmográfica. En el eje de las abscisas el número de onda en orden cronológico. En el eje de las ordenadas el valor de r. Se observa una disminución en dicho coeficiente, así como una mayor dispersión para los registros posteriores a la isquemia.

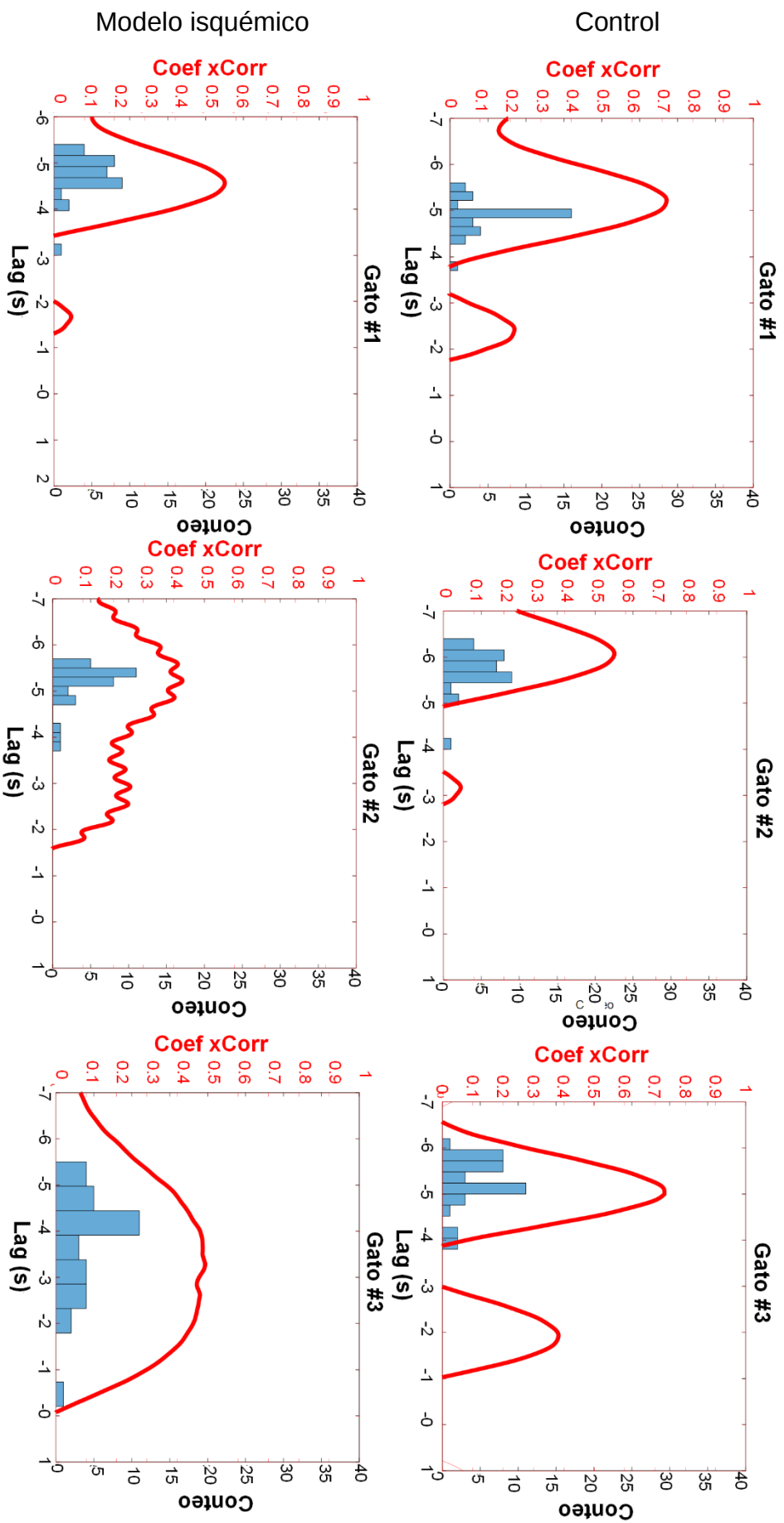


Figura 23 A: Descripción en la siguiente página

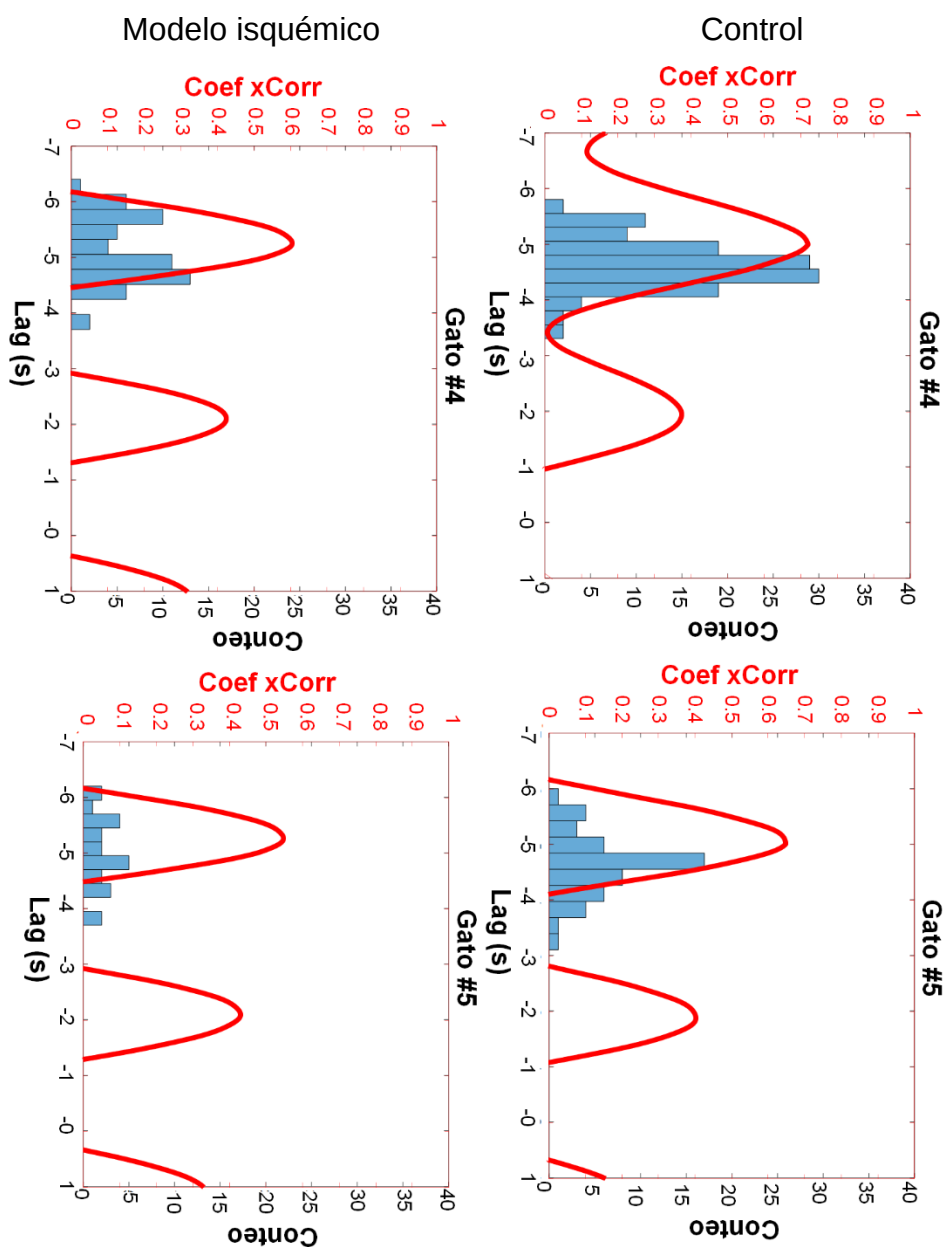


Figura 23 B

Figura 23 A y B: En rojo se muestra la correlación cruzada promedio para cada sujeto experimental tanto en condiciones control (trazo superior) como de lesión isquémica (trazo inferior). En las barras azules se muestra el histograma de los retrasos de la señal de la presión arterial con respecto a la señal fotopletismográfica. Dicho retraso fue calculado como el punto en el tiempo en el que las señales mostraron la mayor correlación.

Registros obtenidos en la corteza cerebral

Una vez obtenidos los registros correspondientes a la segunda serie experimental, estos fueron evaluados fuera de línea para garantizar que cumplieran con los criterios para su inclusión en el análisis. Los registros obtenidos de la aplicación del fotopletismógrafo en la corteza cerebral fueron similares a aquellos obtenidos en la médula espinal (figura 24). Los datos fueron procesados de la misma forma que en la serie experimental precedente.

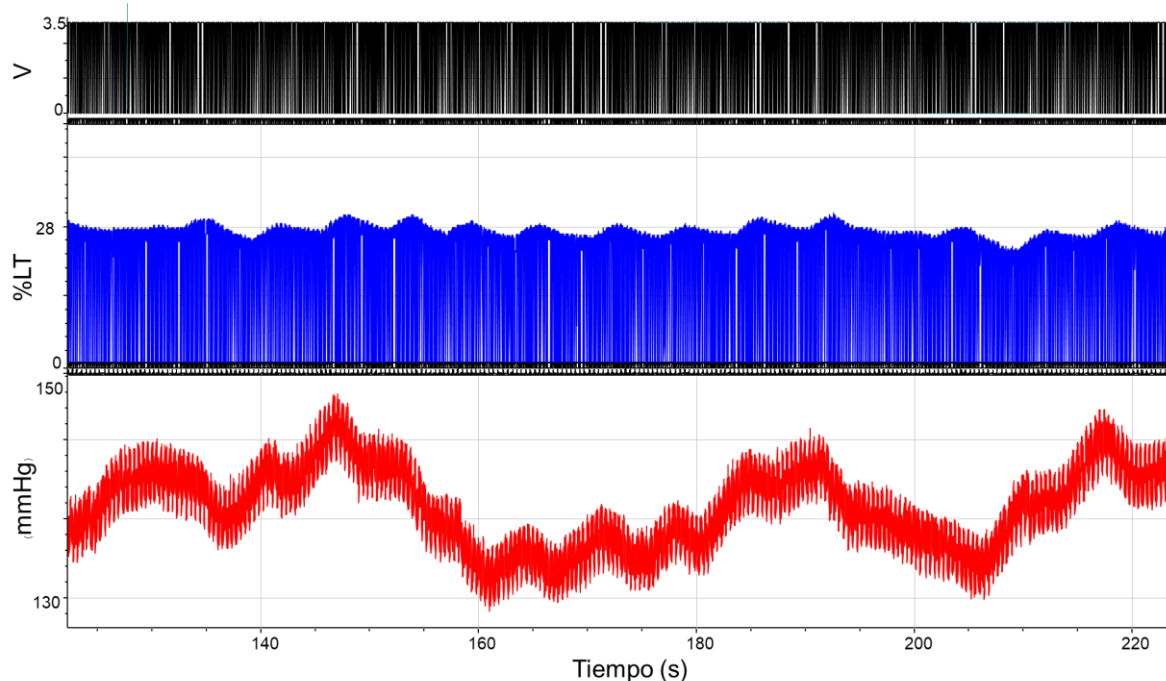


Figura 24: Ejemplo de un registro obtenido en la corteza cerebral que cumple con todos los requisitos para su inclusión en el análisis. En negro se observa la alimentación del LED con las características previamente descritas. Azul: señal fotopletismográfica sin artefactos y con la basal en 0. Rojo: presión arterial.

Retraso las señales PPG de la corteza cerebral y la PA.

A partir de nuestros registros pareados en la corteza cerebral y la arteria carótida se obtuvieron la siguiente cantidad de ondas de Mayer aisladas para cada condición experimental:

	Registros control	Registros primera oclusión	Registros segunda oclusión	Registros tercera oclusión
Número de ondas de Mayer	220	159	198	171
Retraso promedio (s)	2.628 ± 2.171	2.081 ± 0.854	2.158 ± 1.070	2.250 ± 0.958

Al analizar los registros realizados en la corteza cerebral, nuevamente se encontró un retraso entre las señales de la presión arterial y aquellas provenientes del fotopletimógrafo. La normalidad de dichos retrasos fue evaluada por condición: registros control, registros realizados durante la primera oclusión, registros realizados durante la segunda oclusión y los registros realizados durante la tercera oclusión.

Debido a que no todas las poblaciones de datos tuvieron una distribución normal, se realizó la prueba Kruskal-Wallis para evaluar si el retraso promedio poblacional por condición difería con las demás. Al evaluar las 4 condiciones se obtuvo un valor de **H=2.378** con **3 grados de libertad**. El valor calculado de **p** fue de **0.498**, por lo que **no hay una diferencia significativa en el retraso** observado en condiciones **control y aquellos** observados tras la **oclusión vascular**.

Registros control en la corteza cerebral.

Durante los experimentos realizados en condiciones control, se registraron un total de **220 ondas de Mayer** de los registros de PA y PPG, las cuales cumplieron con los criterios de inclusión para su análisis.

Una vez seleccionados y aislados dichos registros, estos fueron analizados para obtener la duración y amplitud de la presión arterial y la señal fotopletismográfica, así como la correlación entre ambas. Adicionalmente, se les obtuvo su espectro de potencia (Figura 25) y se realizaron las pruebas estadísticas apropiadas. La clasificación de las oscilaciones presentes en los registros fue realizada de acuerdo a la literatura.

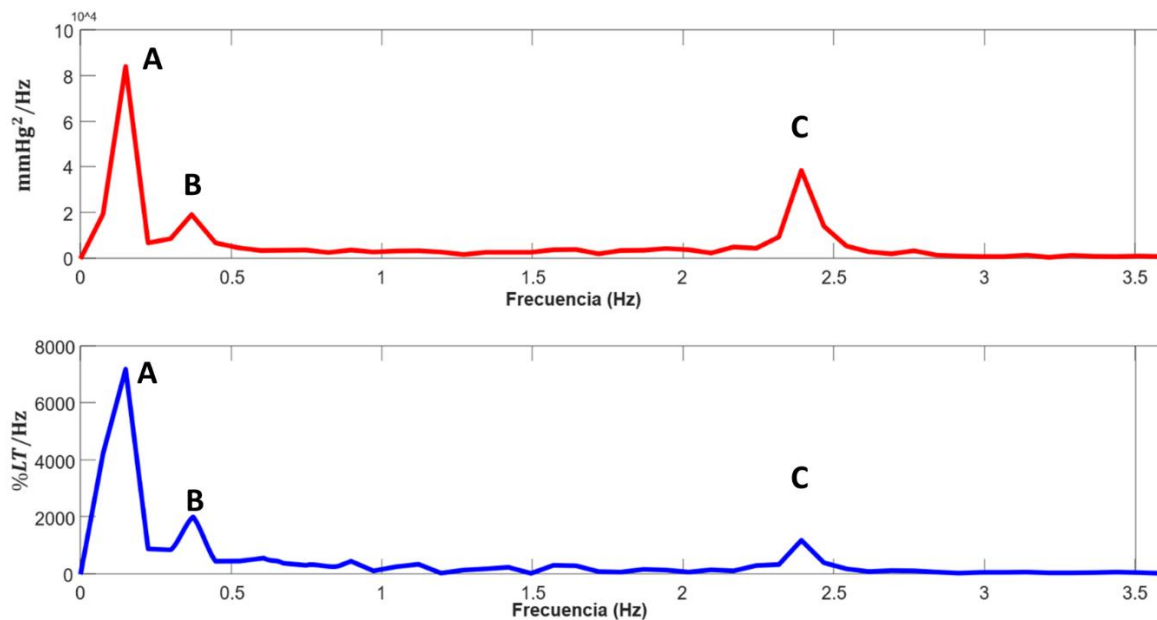


Figura 25: Ejemplo de espectro de potencia realizado para las señales de la presión arterial (rojo) y fotoplethysmográficas (azul) durante condiciones control en la corteza cerebral del gato anestesiado.

Ondas de primer orden (intervalo R-R)

Nuevamente la frecuencia cardiaca fue calculada con un promedio de 123 latidos por minuto (**F=0.488 Hz**, C en la figura 25). Dicha frecuencia es más baja que en los registros realizados en la médula espinal debido a la administración continua de pentobarbital sódico (Hanamoto, Niwa, Sugimura, & Yoshinari, 2012), pero no supuso un factor perjudicial para el sujeto (Steagall, Robertson, & Taylor, 2017).

Ondas de segundo orden (Hering-Traube)

En esta serie experimental el animal respiró de forma libre, encontrado en los registros control una frecuencia respiratoria de 12 a 20 ciclos por minuto (**F= 0.189 – 0.348 Hz**). Nuevamente esto se debe al paradigma experimental y no se encuentra fuera de los valores esperados para un gato anestesiado. Tanto en los registros obtenidos por medio del transductor de presión como aquellos provenientes del fotoplethysmógrafo, se observó un incremento en la magnitud en dicho intervalo de frecuencias denotados en el ejemplo de la figura 25 con la letra B.

Ondas de tercer orden (Mayer)

La medición de la duración las oscilaciones de tercer nivel para los registros de presión arterial y PPG dieron como resultado un promedio de 17.653 ± 8.598 y 17.592 ± 8.505 segundos, respectivamente. Dichas duraciones indican frecuencias de **0.110 a 0.039 Hz** para las señales provenientes de la presión arterial y de **0.110 a 0.038 Hz** para aquellas señales provenientes del fotoplethysmógrafo. No existe una

diferencia significativa entre las frecuencias obtenidas de las señales fotopletomográficas y de presión arterial ($p=0.957$, prueba Mann-Whitney).

Nuevamente, las oscilaciones encontradas entran dentro del rango de duración para las ondas de Mayer presente en la literatura.

Registros en el modelo de isquemia cortical.

En esta segunda fase experimental, se registraron un total de 159 ondas de Mayer posteriores a la primera oclusión, 198 posteriores a la segunda oclusión y 171 posteriores a la tercera oclusión. Todos los registros fueron analizados siguiendo el mismo procedimiento que se realizó con los grupos experimentales anteriores. Las oclusiones se realizaron en intervalos de aproximadamente una hora entre ellas.

Ondas de primer orden (intervalo R-R)

El ritmo cardiaco fue calculado a partir del electrocardiograma. Para los registros realizados después de la primera isquemia cortical, se determinó una banda de frecuencias entre **2.181 y 2.383 Hz**, lo que corresponde a una frecuencia cardiaca de entre 98 y 131 latidos por minuto, con un promedio de 118 bpm.

Para los registros obtenidos después de la segunda lesión isquémica, se obtuvo una banda de frecuencias entre los **1.733 y 2.58 Hz** la cual es correspondiente a un ritmo cardiaco de 104 y 155 latidos por minuto. El promedio para este grupo de registros fue de 137 latidos por minuto. Finalmente, para los registros obtenidos posteriores a la tercera oclusión se encontró una frecuencia cardiaca de **1.633 a 2.310 Hz** lo que equivale a un ritmo cardiaco de 98-138 ciclos por minuto. Para este último grupo de datos, el promedio fue de 125 latidos por minuto.

En todos los casos, el ritmo cardiaco se encontró dentro de los valores nominales para un gato anestesiado y no supusieron un riesgo para la viabilidad de la preparación (Brown, y otros, 2007).

	Primera oclusión	Segunda oclusión	Tercera oclusión
Frecuencia cardiaca (Hz)	2.181 – 2.383	1.733 – 2.58	1.633 – 2.310

Ondas de segundo orden (Hering-Traube)

Como se detalló anteriormente, los sujetos experimentales a pesar de estar anestesiados, no se encontraban sometidos a respiración mecánica por lo que su respiración era espontánea.

Para los registros realizados inmediatamente después de la primera oclusión, se registró la frecuencia de las ondas Hering-Traube con una banda de los **0.149 a 2.66 Hz**. Dichas frecuencias equivalen a 9 a 23 respiraciones por minuto.

En los registros realizados después de la segunda oclusión, se encontró un aumento en las frecuencias de **0.196 a 0.364 Hz**. Dichas frecuencias corresponden a una frecuencia respiratoria de 11.76 a 22 respiraciones por minuto.

Por último, en el caso de los registros realizados después de la tercera oclusión, se detectó un incremento en la magnitud espectral en las frecuencias de **0.121 a 0.303 Hz**. Dicha actividad corresponde a una frecuencia respiratoria de 7 a 18 ciclos por minuto.

En todos los procedimientos realizados, la frecuencia respiratoria se encuentra dentro de los valores normales esperados para gatos anestesiados (Bednsarski, y otros, 2011).

	Primera oclusión	Segunda oclusión	Tercera oclusión
Frecuencia respiratoria (Hz)	0.266 – 0.149	0.364 – 0.196	0.303 – 0.121

Ondas de tercer orden (Mayer)

Nuevamente se realizó la medición de la frecuencia de las ondas de Mayer tanto en los registros de presión arterial como del fotopletismograma por medio de espectros de potencia.

Para los registros obtenidos durante la primera oclusión, se encontró un aumento en la magnitud espectral entre los **0.026 y 0.142 Hz** lo que corresponde a una frecuencia entre 7.042 y 38.462 segundos. La duración promedio de las ondas de Mayer después de la primera oclusión fue de **17.752 segundos**.

En el caso de los registros obtenidos después de la segunda oclusión, dicho aumento en la magnitud espectral se registró entre los **0.024 y 0.113 Hz**. Ello corresponde a una duración de las ondas de Mayer de los 8.849 a los 41.667 segundos, con un **promedio de 17.399 segundos**.

Por último, en los registros obtenidos después de que se realizó la tercera oclusión de un vaso cortical, se observó un incremento en la magnitud espectral entre los **0.022 y 0.102 Hz**. Dichas frecuencias corresponden a una duración de las ondas de Mayer de 9.804 a 45.455 segundos, con un **promedio de 18.802 segundos**.

Al corroborar los valores encontrados con aquellos citados en la literatura, se encontró que dichos valores se encuentran dentro de los parámetros normales.

	Primera oclusión	Segunda oclusión	Tercera oclusión
Frecuencia ondas de Mayer (Hz)	0.142 - 0.026	0.113 – 0.024	0.102 – 0.022

Comparación de los registros obtenidos en condiciones control y de isquemia cortical.

Los resultados obtenidos de los experimentos realizados en la corteza cerebral se muestran en la siguiente tabla de promedios:

	Control n=220	Primera oclusión n=159	Segunda oclusión n=198	Tercera oclusión n=171
Duración PPG (s)	17.653 ± 8.598	18.275 ± 5.672	17.268 ± 4.814	17.860 ± 6.637
Duración PA (s)	17.653 ± 8.598	17.752 ± 5.052	17.399 ± 4.868	17.923 ± 6.717
Retraso entre las señales (s)	2.253 ± 1.237	2.081 ± 0.854	2.113 ± 0.992	2.250 ± 0.985

Amplitud de PA (mmHg)	7.059 ± 3.753	9.802 ± 5.345	11.086 ± 4.146	8.159 ± 4.568
Amplitud del PPG (%LT)	0.209 ± 0.177	0.178 ± 0.222	0.367 ± 0.285	0.278 ± 0.374

Nuevamente se realizaron pruebas de normalidad a los resultados obtenidos. Al obtener resultados negativos para la normalidad, se emplearon pruebas Mann-Whitney para comparar los valores de las señales obtenidas de la presión arterial con sus contrapartes fotopleetismográficas. En todos los casos se obtuvieron valores de **p>0.05**. Dicho resultado indica que **no existen diferencias significativas** en la **duración, amplitud y retraso** de las señales registradas por medio del transductor de presión intraarterial y aquellas provenientes del fotopleetismógrafo.

A pesar de que no existe una diferencia significativa entre ambas modalidades de adquisición en un mismo sujeto, si existe una variación en la duración (Figuras 26 y 27) y amplitud (Figuras 28 y 29) entre los sujetos empleados. Dicho de otra forma, en cada sujeto experimental la amplitud y la duración de las ondas de Mayer detectadas varió de manera distinta a como lo hizo en los otros sujetos.

La duración de las ondas de Mayer y la de su señal fotopleetismográfica correspondiente en la corteza, fueron los parámetros más similares. Al realizar pruebas de correlación entre la duración de las dos señales, así como de sus amplitudes se obtuvieron los siguientes resultados:

Control	Primera Oclusión	Segunda Oclusión	Tercera Oclusión
---------	------------------	------------------	------------------

Duración PA - Duración PPG	r=0.998 p<0.001	r= 0.640 p<0.001	r= 0.988 p<0.001	r= 0.977 p<0.001
Amplitud PA- Amplitud PPG	r=0.294 p=0.294	r= 0.356 p<0.001	r= 0.819 p<0.001	r= -0.555 P<0.001

Siguiendo la clasificación de Mukaka para las correlaciones, la correlación entre la duración de la señal obtenida por el transductor de presión y la señal fotoplefetismográfica para los registros control y aquellos de la segunda y tercera oclusión deben ser clasificados como correlaciones muy altas. Por su parte, la correlación entre la duración de las señales obtenidas durante la primera oclusión es una correlación moderada. En todos los casos las correlaciones fueron significativas.

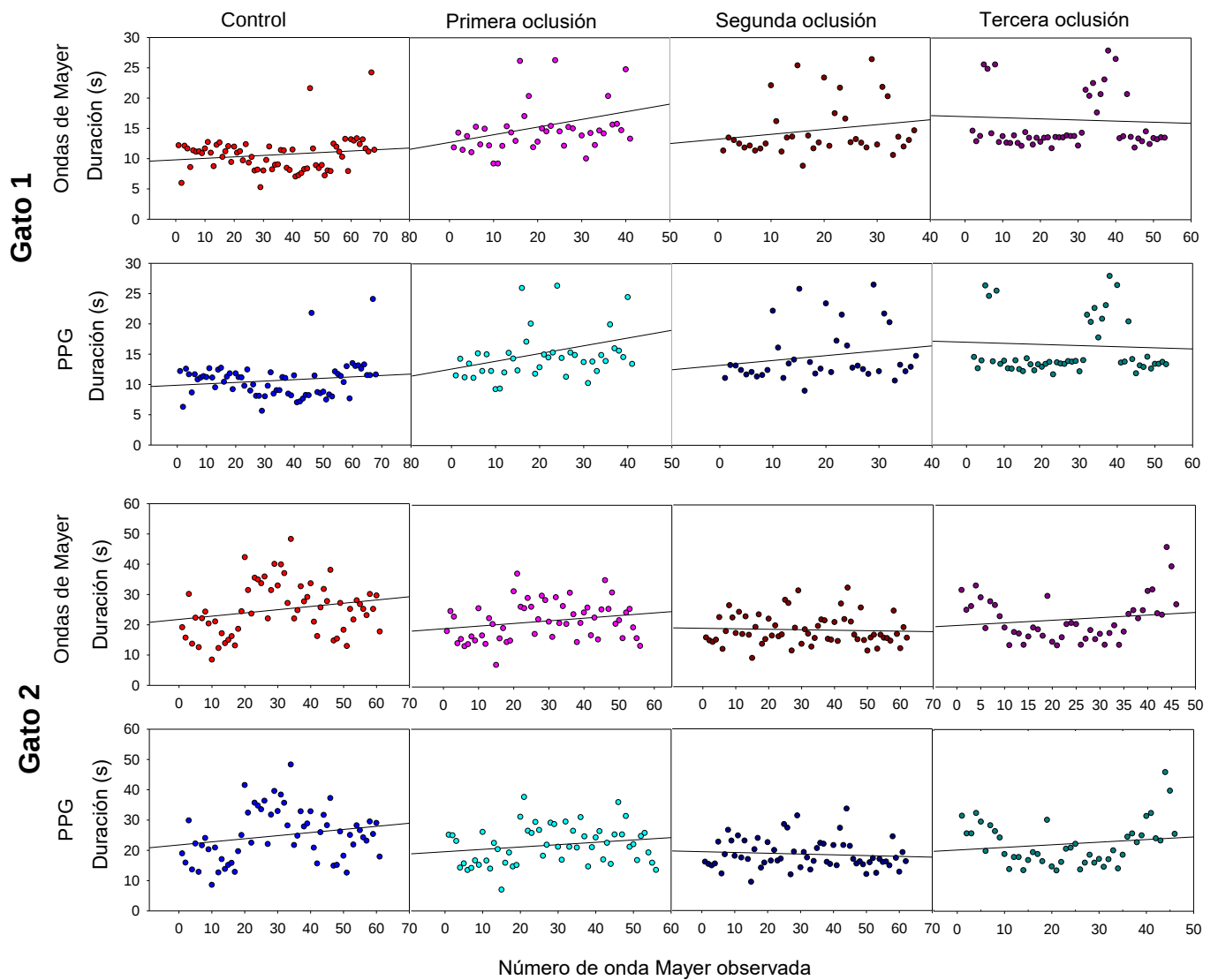


Figura 26: Gráficas por sujeto, que ilustran la duracion de las señales fotoplethysmográficas y la presión arterial. En el eje de las absisas se muestran las ondas de Mayer observadas en los registros de forma cronológica, mientras que en el eje de las ordenadas esta expresada la duración de la oscilación para dicho registro. Para cada sujeto, hay dos filas de gráficas y 4 columnas. La primera fila denota las señales provenientes del transductor de presión mientras que en la segunda se grafica la duración de las señales fotoplethysmográficas. La primera columna muestra los registros control; la segunda los registros posteriores a la

primera oclusión; la tercera los registros posteriores a la segunda oclusión y finalmente en cuarta los registros de la tercera oclusión.

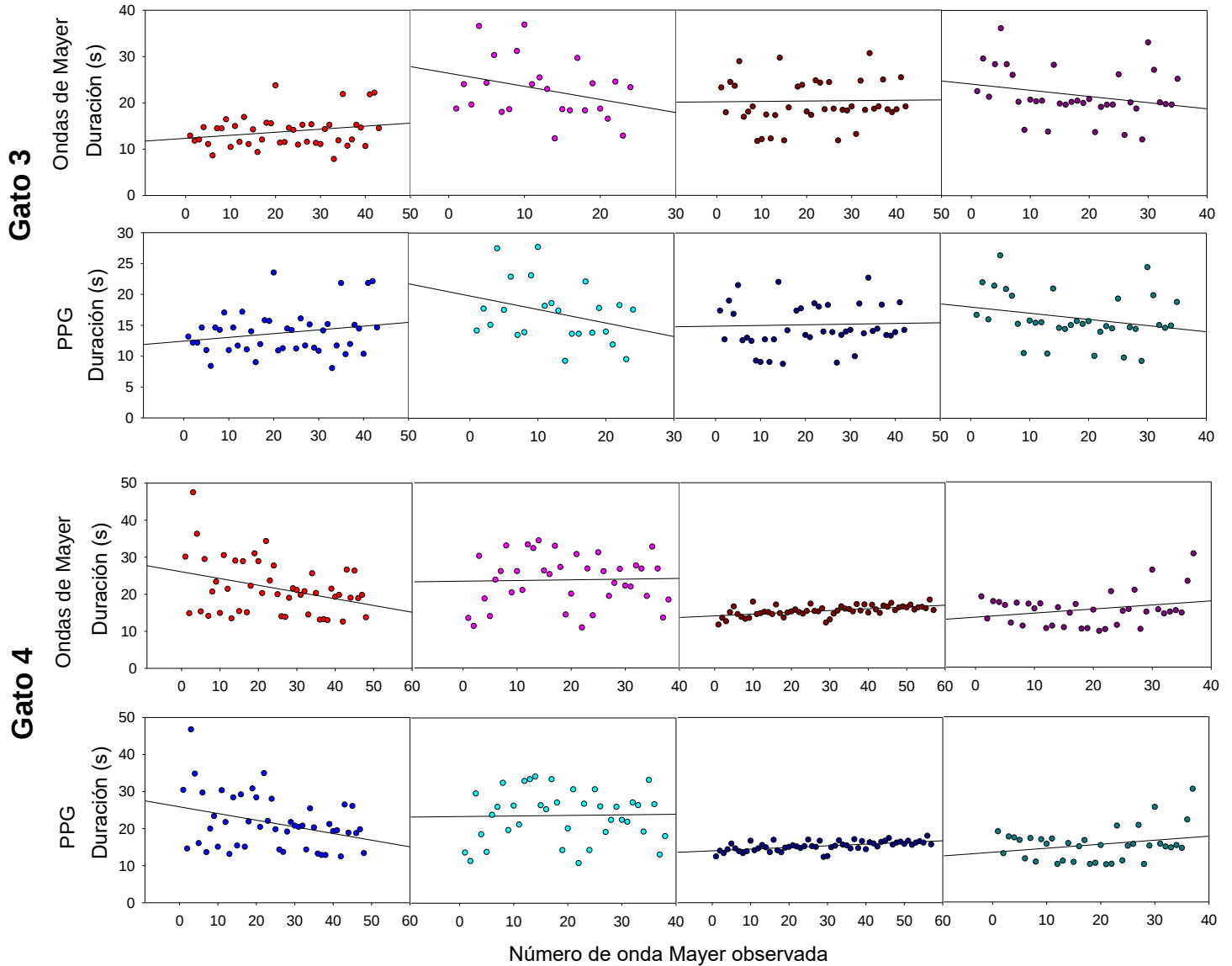


Figura 17: Duración por registro obtenidos en los sujetos experimentales 3 y 4 durante condiciones control y posteriores a las oclusiones. Igual que en la figura anterior se observa una alta concordancia entre los registros provenientes de las dos modalidades de adquisición, mas no cuando se comparan los valores entre sujetos.

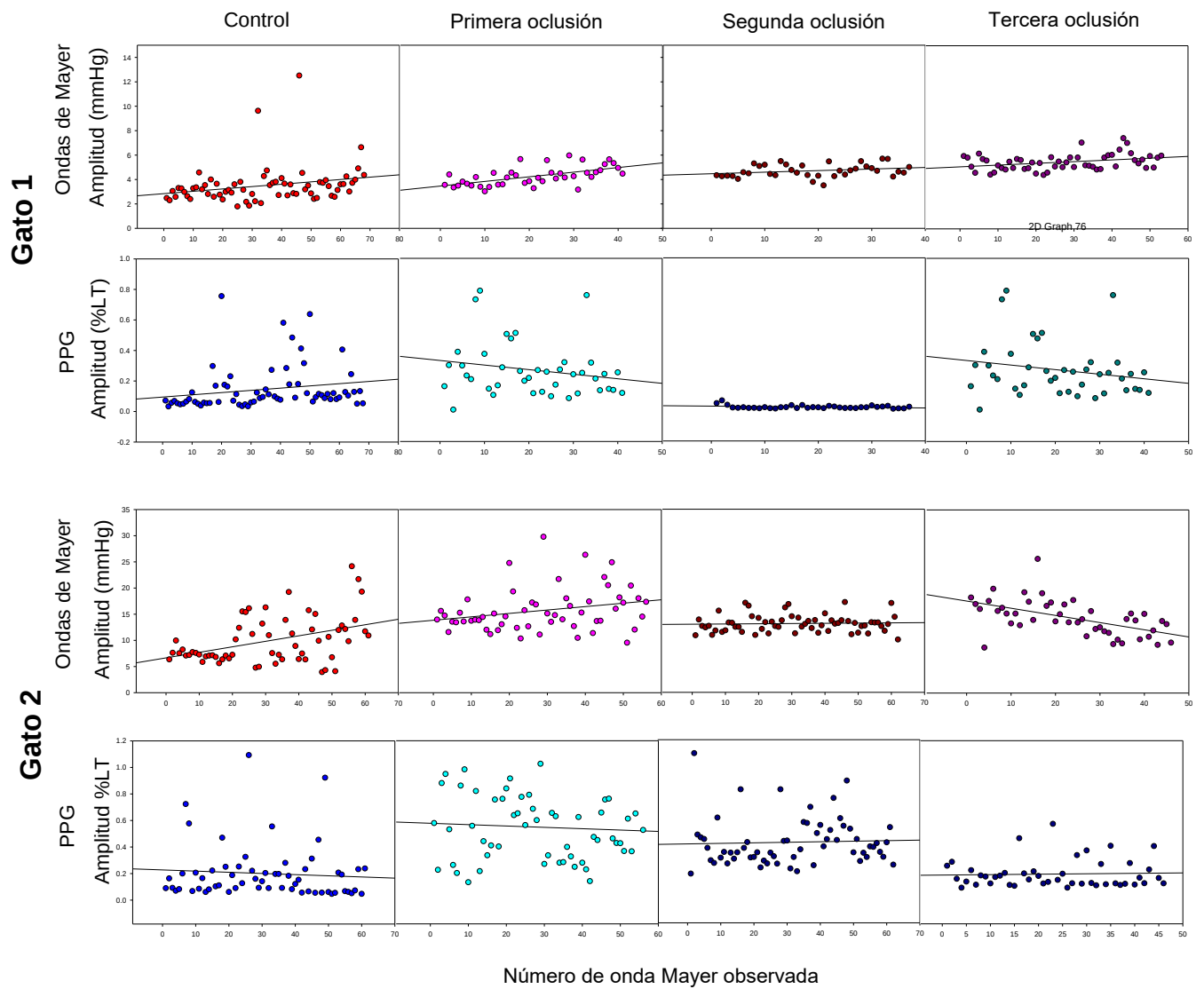


Figura 28: Gráficas demostrando los cambios en la amplitud de los registros realizados en condiciones control y posteriores a las oclusiones realizadas en la corteza cerebral.

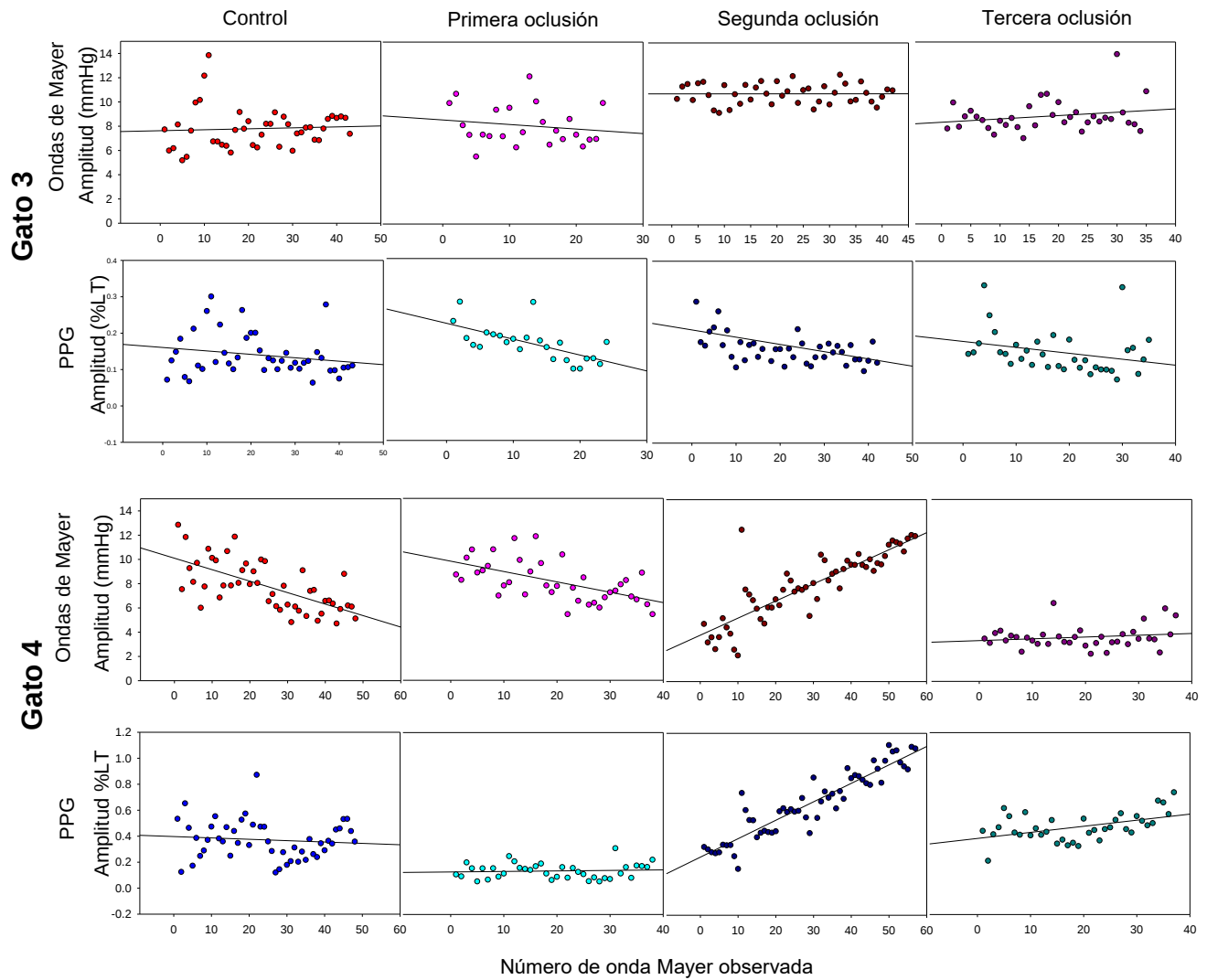


Figura 29: Fluctuación de la amplitud de las señales registradas a lo largo del tiempo en los sujetos experimentales 3 y 4.

Coeficientes de correlación y comparación entre los registros control y aquellos obtenidos en condiciones de lesión isquémica.

Nuevamente, se estimaron los coeficientes de correlación cruzada entre las señales provenientes de la presión arterial y sus contrapartes provenientes del registro fotoplefetismográfico (figuras 30, 31, 32 y 33). Al igual que en los casos anteriores, los valores de r fueron convertidos a z' , promediados y reconvertidos a r . Asimismo, se verificó que las correlaciones fueran significativas para cada par de registros, por sujeto y finalmente por grupo experimental. Los valores de z' promedio, r , la n para cada grupo y el valor de p para cada tratamiento se expresan en la siguiente tabla:

	Control	Primera oclusión	Segunda oclusión	Tercera oclusión
z' Promedio	0.753	0.711	0.665	0.608
r	0.637	0.611	0.582	0.543
n	220	159	198	171
p	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

Con base en dicha tabla y considerando un valor de alfa de 0.05 para las pruebas estadísticas, se puede concluir que **las correlaciones** entre las señales provenientes de las ondas de Mayer medidas en el lumen de la arteria carótida y aquellas adquiridas por medio del fotoplefetismógrafo **son significativas dentro de sus respectivos tratamientos**. Adicionalmente, siguiendo la clasificación de Mukaka (2012) para los coeficientes de correlación, podemos establecer que los valores obtenidos para dicho estadístico se distribuyen de la siguiente forma:

	Control	Primera oclusión	Segunda oclusión	Tercera oclusión
r	0.637	0.611	0.582	0.543
Clasificación	Moderada	Moderada	Moderada	Moderada

Con el propósito de dar una comparación numérica a las correlaciones obtenidas durante los 4 tratamientos realizados a lo largo de la serie experimental realizada en la corteza del gato, se realizó un análisis de varianza por rangos Kruskal-Wallis de una sola vía. A partir de dicho análisis se obtuvo una **H= 50.958** con **3 grados de libertad** y una **p < 0.001** y se continuó el análisis por medio del procedimiento de comparación de múltiples pares (método de Dunn). A partir de dicho análisis se generó la siguiente tabla:

Comparación	Diferencia de rangos	Q	P<0.05
Control / Primera oclusión	35.639	1.604	No
Control / Segunda oclusión	88.632	4.206	Si
Control / Tercera oclusión	146.573	6.730	Si
Primera oclusión / Segunda oclusión	52.993	2.372	No
Primera oclusión / Tercera oclusión	110.934	4.821	Si
Segunda oclusión / Tercera oclusión	57.941	2.645	Si

Por medio de las tablas anteriores se puede observar un **decremento en coeficiente de correlación de las señales a medida que se implementan las lesiones isquémicas en la corteza cerebral**. Asimismo, dicha diferencia no es significativa entre un tratamiento y el inmediatamente siguiente, salvo entre la tercera y segunda oclusión. Adicionalmente, se puede concluir a partir de dicha tabla que existe una diferencia significativa entre los registros obtenidos en condiciones control contra aquellos obtenidos posteriores a la segunda y tercera oclusión. Ello

indica que **la metodología empleada** en el presente trabajo es **capaz de detectar diferencias significativas** entre las señales provenientes del fotopletismógrafo y aquellas obtenidas del lumen de la arteria carótida después de la aplicación de un **modelo de lesión isquémica focal cortical**.

Control

1° Oclusión

2° Oclusión

3° Oclusión

64

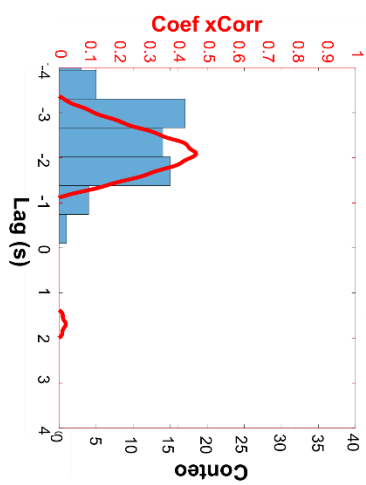
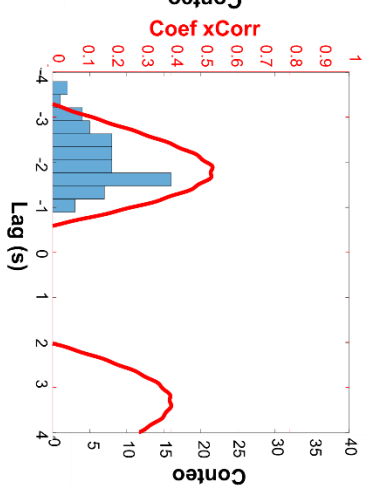
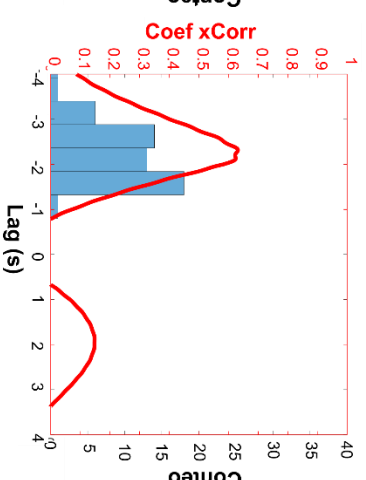
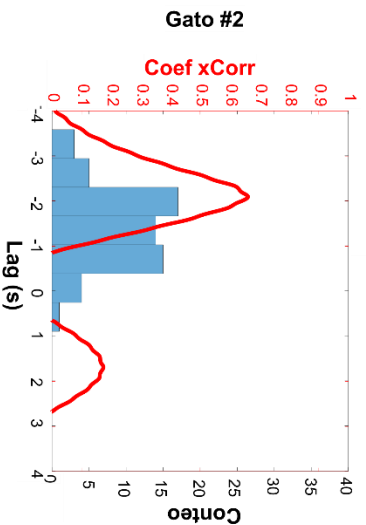
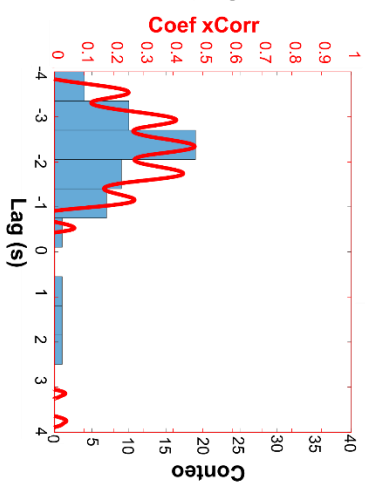
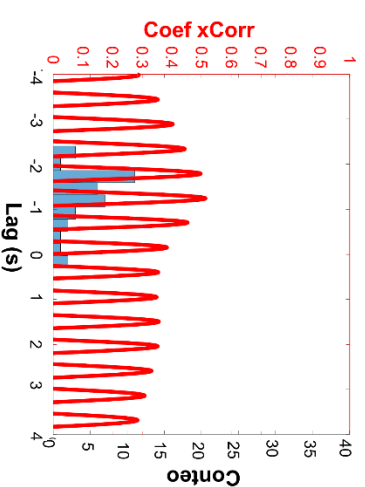
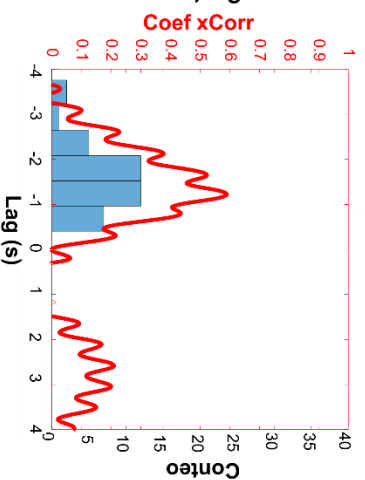
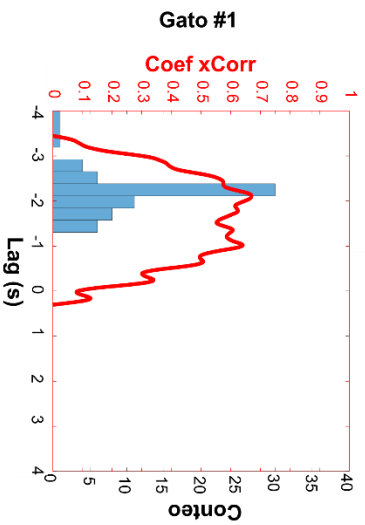


Figura 30: Coeficiente de correlación cruzada y retraso para los gatos 1 y 2. En rojo se observa la correlación cruzada promedio para cada gato en cada una de las condiciones experimentales. En azul se muestra el histograma de los retrasos entre la presión arterial y la señal fotoplestismográfica. Se aprecia concordancia entre ambos parámetros

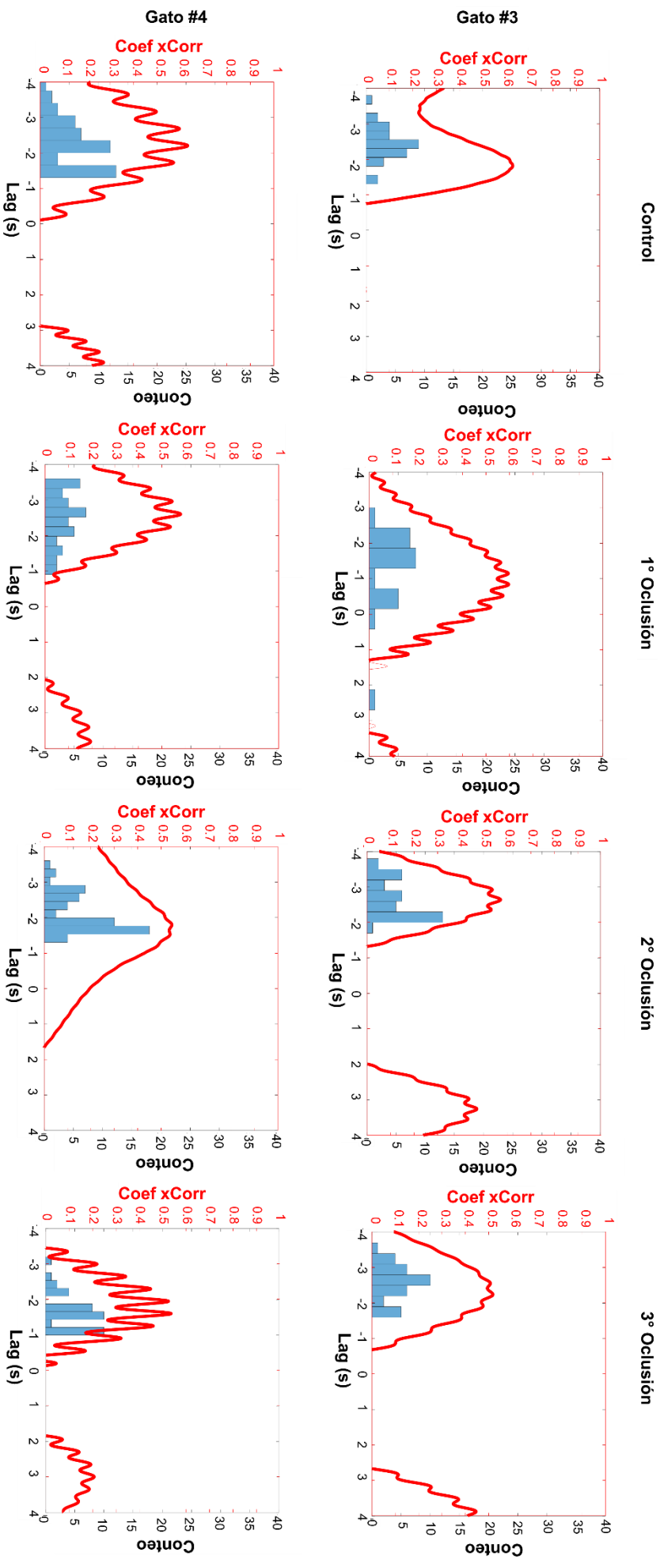


Figura 31: Coeficiente de correlación cruzada y retraso para los gatos 3 y 4 de la serie experimental realizada en corteza cerebral. En rojo se observa la correlación cruzada promedio para cada gato en cada una de las condiciones experimentales. En azul se muestra el histograma de los retrasos entre la presión arterial y la señal fotopleisimográfica.

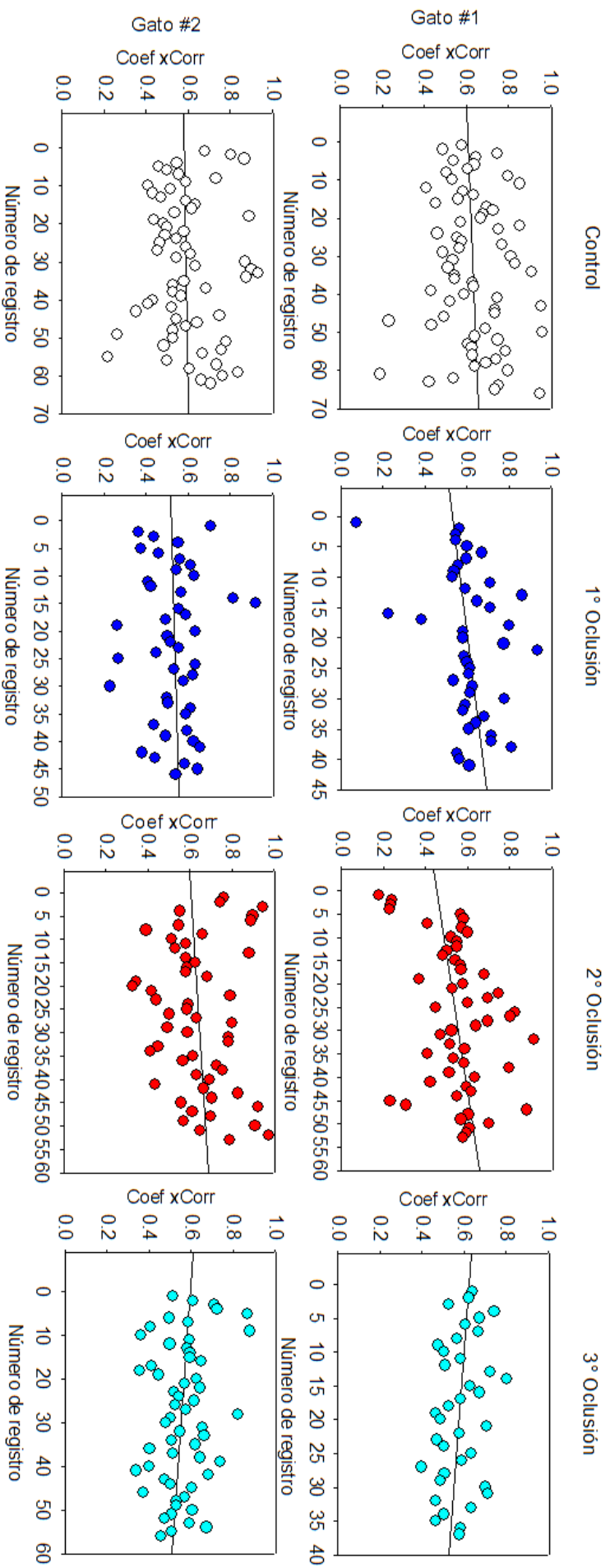


Figura 32: Coeficientes de correlación cruzada para los pares de señales de PA-PPG registrados en los gatos 1 y 2. Cada columna corresponde a una condición experimental, mientras que cada punto corresponde al coeficiente de correlación cruzada (r) entre la señal fotopleitismográfica y su contraparte en la presión arterial. En el eje de las ordenadas se muestra el número de registro. En ambos casos se observa una tendencia a la disminución del coeficiente de correlación a medida que incrementa el número de oclusiones realizadas en los vasos sanguíneos de la corteza.

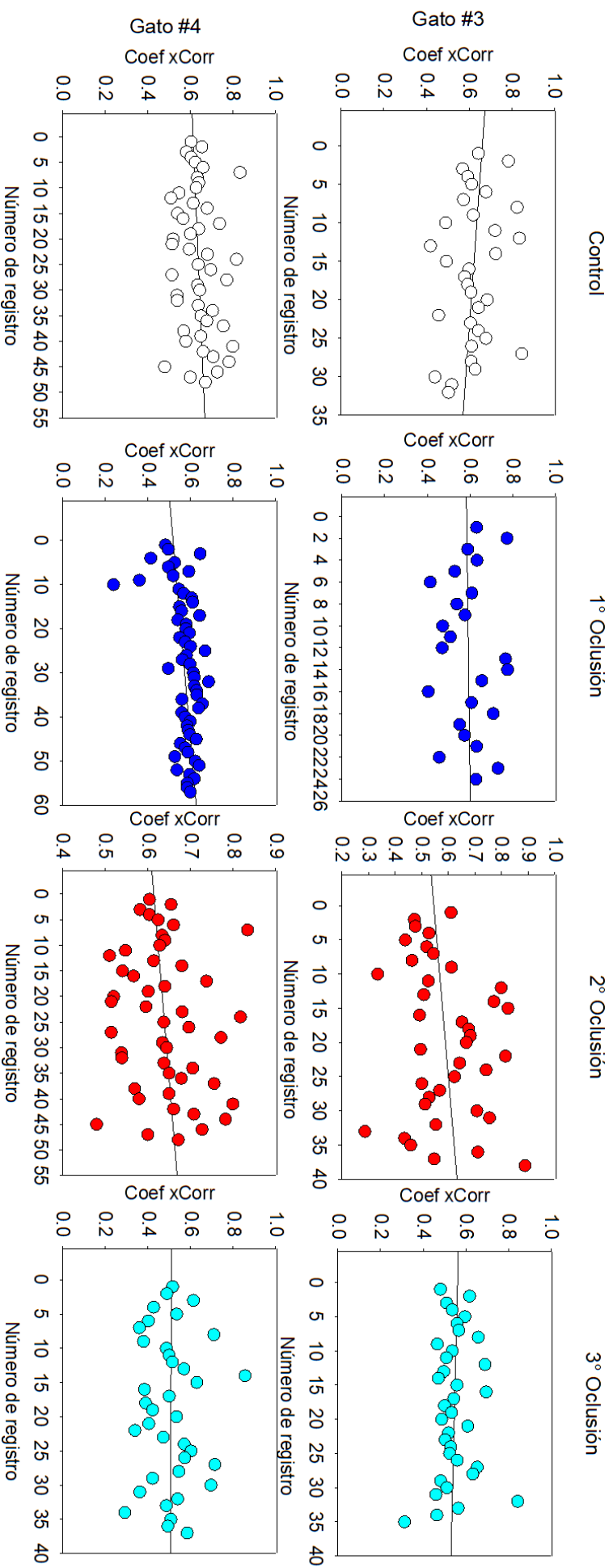


Figura 33: Coeficientes de correlación cruzada para los pares de señales de PA-PPG registrados en los gatos 2 y 3. La distribución y significado de las gráficas son las mismas que la figura anterior. Nuevamente se observa una tendencia a la disminución del coeficiente de correlación a medida que incrementa el número de oclusiones realizadas en los vasos sanguíneos de la corteza.

Resumen de los resultados.

A lo largo del presente trabajo se desarrollaron dos series experimentales: una de registros fotopleetismográficos en la médula espinal y una segunda en la corteza cerebral. Una vez obtenidos los registros que funcionaron como control, se realizó la oclusión de los vasos sanguíneos aledaños al sitio de registro, con el propósito de simular una lesión de tipo isquémico. En la primera serie experimental se realizó una sola oclusión, mientras que en la segunda serie experimental se realizaron 3 lesiones con intervalos de una hora entre ellos.

Registros realizados en la médula espinal

En la primera serie experimental se obtuvo un total de 259 registros correspondientes a las ondas de Mayer en condiciones control y 136 ondas de Mayer, una vez aplicado el modelo de lesión isquémica.

Se evaluó la correlación cruzada entre las señales provenientes del fotopleetismograma y aquella proveniente del transductor de presión arterial en la carótida. Se evaluó la significancia de los coeficientes de correlación cruzada para cada par de señales, así como para cada tratamiento experimental y por sujeto. En todos los casos la correlación fue significativa.

Finalmente, se comparó el coeficiente de correlación cruzada obtenido de los registros en condiciones **control ($r=0.729$)** contra aquel proveniente de los registros posteriores a la lesión (**$r= 0.531$**). De acuerdo a la escala empleada para la clasificación de los coeficientes de correlación, la correlación obtenida en los registros control corresponde a una correlación alta; mientras que aquella proveniente de los registros del modelo isquémico corresponde a una correlación moderada. El valor calculado de p para la comparación entre dichos coeficientes fue menor a 0.001, por lo **que existe una diferencia significativa entre los coeficientes de correlación de los tratamientos evaluados.**

Registros realizados en la corteza cerebral

En la serie experimental realizada en la corteza cerebral del gato se obtuvo un total de 220 registros en condiciones control, 159 registros después de la primera oclusión, 198 después de la segunda y 171 después de la tercera oclusión.

Al evaluar las correlaciones cruzadas de las señales de PA y PPG, se encontraron los siguientes valores: **control $r= 0.637$; primera lesión $r=0.611$; segunda lesión $r=0.582$; y tercera lesión $r=0.543$** . En todos los casos dichos coeficientes fueron clasificados como correlaciones moderadas. Adicionalmente, se encontró una **diferencia significativa entre el coeficiente de correlación de los registros control contra aquellos provenientes de la segunda y tercera oclusión ($p<0.001$)**.

Discusión

En el presente trabajo se han caracterizado las señales provenientes del registro de las ondas de Mayer de forma intra-arterial y por medio de un fotoplefetismógrafo. Asimismo, se evaluó la correlación entre ambas señales, tanto en condiciones control como en condiciones isquémicas adyacentes al sitio de registro. A pesar de las limitaciones que presentan la metodología empleada y el alcance del presente trabajo, este es una demostración de la viabilidad para el uso de fotoplefetismógrafos para la evaluación de la integridad del tejido neural.

En la literatura hay reportes de la implementación de dispositivos opto-eléctricos para la evaluación de lesiones por compresión en la médula espinal de la rata (Phillips, y cols., 2006) y la existencia de dispositivos para la medición de las señales BOLD (Blood Oxygen Level Depent) en la corteza cerebral humana por medio de espectroscopía de infrarrojo cercano (Duan, Zhang, & Zhu, 2012; Quaresima, Bisconti, & Ferrari, 2012). Sin embargo, el trabajo presentado en esta tesis es un primer acercamiento para la implementación de la fotoplefetismografía para la evaluación de patologías neurales de tipo isquémico sin el uso paralelo de resonancia magnetica funcional. Por lo tanto, la presente prueba de concepto podría resultar beneficiosa para el desarrollo de tecnologías accesibles para el diagnostico oportuno de eventos neurovasculares.

A continuación se detallan algunos de los fenómenos más importantes descubiertos a lo largo del desarrollo del presente trabajo:

Retraso entre las señales PPG y PA

En ambas series experimentales se observó un retraso entre las señales obtenidas por el transductor de presión en la arteria carótida y el fotoplefetismógrafo. Para los registros realizados en la médula espinal, la latencia fue de 5.376 ± 2.365 segundos. Mientras que en los registros realizados en la corteza cerebral fue de 2.628 ± 2.171 segundos. A partir de la prueba realizada donde se midió de forma paralela la

presión arterial en la arteria femoral, se sugiere que el tiempo de latencia entre las señales se debe a la distancia entre los puntos de registro, así como vascularización de las zonas. Al disminuir el diámetro de los vasos sanguíneos se reduce la velocidad de flujo (Munson, Young, Okiishi, & Huebsch, 2009).

Adicionalmente, es relevante la mención de la existencia de tiempos de latencia en la adquisición de señales hemodinámicas de forma indirecta por medio de otras metodologías. El monitor de presión arterial no invasivo Finometer Pro (Finapres Medical Systems) presenta una latencia de aproximadamente 8 segundos, con respecto a la medición por medio de un catéter inserto en la arteria carótida del humano. Asimismo, Rieger y colaboradores (2018) registraron las ondas de Mayer en el humano por medio del cambio volumétrico en los vasos de la retina y el uso de un monitor Finometer, encontrando una latencia de 5 segundos entre señales.

Con base a dichos antecedentes bibliográficos, se puede atribuir el retraso encontrado entre las señales fotopletimográficas y de presión arterial en el presente trabajo a las propiedades intrínsecas del tejido y no a un posible artefacto.

Amplitud de las ondas de Mayer

Se observó una diferencia entre la amplitud de las oscilaciones de la presión arterial en la arteria carótida y de las oscilaciones fotopletimográficas de la corteza cerebral.

En primera instancia, la menor magnitud de las oscilaciones provenientes de los registros realizados en corteza cerebral se debe al uso continuo de pentobarbital sódico intravenoso (Macintire, Drobatz, Haskins, & Saxon, 2012) (Steagall, Robertson, & Taylor, 2017). En la literatura se encuentra bien documentada la disminución en la frecuencia cardíaca debido a dicho fármaco (Baum, Halter,

Taborsky, & Portre Jr., 1985). Asimismo, se ha visto una disminución en la banda de frecuencias lentas (0.04-0.28 Hz) de la presión arterial posterior a la aplicación de pentobarbital, debido a la disminución de la actividad simpática (Hanamoto, Niwa, Sugimura, & Yoshinari, 2012). Dicho efecto farmacológico pudiese haber influido en los resultados obtenidos de la serie experimental realizada en el cerebro, pudiendo explicar en parte la disminución en los coeficientes de correlación en comparación a los registros obtenidos de la médula espinal.

Aún más, es importante considerar el efecto de los procedimientos quirúrgicos en la presión arterial. En 2011 Shin y colaboradores reportaron un aumento en la actividad simpática posterior a incisiones quirúrgicas realizadas en humanos anestesiados. Dicha modificación de la actividad simpática resultó en aumentos en las oscilaciones en la presión arterial.

El presente trabajo, al ser un primer abordaje a la implementación de fotopletomógrafos para la evaluación de tejido neural, consiste de una cirugía invasiva, en especial la requerida para la exposición de la médula espinal. Aunado a esto, la pérdida de volumen sanguíneo favorece la aparición de ondas vasomotoras de tercer nivel (Halliburton, 1919). Tomando en cuenta estos influjos, futuros trabajos deberán de perfeccionar la metodología implementada tanto para la cirugía como para la anestesia de los sujetos.

Limitaciones del modelo de lesión implementado.

Otro aspecto del presente trabajo que se debe analizar es la elección e implementación del modelo de lesión isquémica.

El modelo de oclusión elegido para simular isquemias espinales ha sido empleado con anterioridad (Macrae, 2011), demostrando en estudios histológicos la similitud fisiológica que tiene con las patologías isquémicas en el tejido neural. A

pesar de esto, futuros trabajos deberían evaluar la implementación de otros modelos que no impliquen el colocar un objeto cerca del sitio de registro.

Igualmente se deberían buscar y evaluar alternativas a la cauterización de la vasculatura cortical. Debido al diámetro de los vasos ocluidos existe una dificultad para la oclusión mecánica, por lo que la cauterización fue la mejor opción. Si bien la cauterización ha sido ampliamente empleada para lograr isquemias corticales focalizadas (Meyer, Anderson, Sundt, & Yaksh, 1986) (Canazza, Minati, Boffano, Parati, & Binks, 2014), es posible que las propiedades ópticas del tejido cauterizado y el periférico se vean modificadas.

A modo de perspectiva, para trabajos subsecuentes, se recomienda la evaluación del uso de endotelina-1, ya que al aplicarla de forma tópica se obtiene una reducción en el flujo sanguíneo cortical. Dicho modelo de lesión isquémica ha sido empleado anteriormente y validado por la medición del flujo sanguíneo por medio de un fluxómetro laser-Doppler (Kjell, y otros, 1997). El efecto de dicho fármaco es dosis dependiente. Otro fármaco que se podría emplear para obtener un modelo de isquemia cortical es la trombina, pero esta debe ser micro-inyectada en el lumen vascular (Macrae, 2011) dificultando su aplicación en los vasos menores de la corteza cerebral del gato.

Resultados obtenidos

A partir de las dos series experimentales realizadas en el presente trabajo se pudieron aislar en primera instancia un total de 259 ondas de Mayer control y 136 en el modelo isquémico de médula espinal. Similarmente en la segunda serie experimental se registraron un total de 220 ondas de Mayer control, 159 posteriores a la primera oclusión, 198 posteriores a la segunda oclusión y 171 después de la tercera oclusión de vasos sanguíneos adyacentes al sitio de registro en la corteza cerebral.

A partir de los registros obtenidos en todas las condiciones experimentales previamente descritas se obtuvieron los siguientes parámetros: cambios en la amplitud tanto de la presión arterial como de la señal fotoplefetismográfica; duración de las ondas de Mayer en el fotoplefetismógrafo y en la presión arterial; así como el retraso entre las señales provenientes del fotoplefetismógrafo y la presión arterial. Tomando en cuenta dichos parámetros y su similitud, se puede aseverar que la señal fotoplefetismográfica es alterada principalmente por la actividad hemodinámica del tejido neural por lo que se puede emplear como una medición indirecta de ella.

El enfoque principal del presente trabajo fue el comparar los coeficientes de correlación cruzada entre las señales provenientes de la presión arterial y aquella proveniente del fotoplefetismógrafo. Para ello, se estimó el valor de r de acuerdo a la metodología previamente descrita, tanto para los registros aislados, por sujeto experimental y por tratamiento. En todos los casos hubo correlaciones significativas entre las señales fotoplefetismográficas y aquellas obtenidas por medio de la cánula inserta en la arteria carótida. Al evaluar dichas correlaciones, se observó una disminución significativa en el coeficiente de correlación después de la lesión isquémica del tejido nervioso.

En los registros obtenidos de la médula espinal se observaron los cambios más dramáticos, ya que el rango de correlación paso de ser una correlación alta ($r=0.729$) en los registros control a una correlación moderada ($r=0.531$) en los registros posteriores a la oclusión del vaso sanguíneo en el dorso de la médula espinal.

Por su parte, los registros realizados en la corteza cerebral también exhibieron cambios en el coeficiente de correlación a medida que se implementaban las lesiones al tejido vascular en la corteza cerebral. En dicha serie experimental todos los tratamientos obtuvieron coeficientes de correlación pertenecientes a las correlaciones moderadas en la escala de Mukaka siendo para los registros control $r=0.637$, para la primera oclusión $r=0.611$, para la segunda $r=0.582$ y en la tercera

$r=0.543$. A pesar de la relativa “poca” variación en el coeficiente de correlación, dichos cambios fueron significativos entre los registros obtenidos en condiciones control y aquellos obtenidos después de la segunda y tercera oclusión. De este modo se validó el uso del fotopleetismógrafo desarrollado en Laboratorio de Neurofisiología Integrativa para el estudio de eventos neurovasculares de tipo isquémico tanto en la corteza cerebral como en la médula espinal. Asimismo, se abre la puerta para posteriores estudios de lesiones de tipo hemorrágico, lesiones traumáticas y el acople de la actividad hemodinámica con la electrofisiológica (Moreno-Castillo, y otros, 2020).

Adicionalmente, futuros trabajos podrían enfocarse en determinar la gravedad y la propagación necesaria de una lesión de tipo isquémico para que esta pueda observarse de forma experimental con el fotopleetismógrafo desarrollado. Ello podría realizarse por medio de técnicas histológicas como tinciones, así como lesiones farmacológicas.

Conclusiones

El presente trabajo supone un primer avance y prueba de concepto para el uso de un acople foto-eléctrico de tipo fotopletismográfico para el estudio de la integridad y lesiones del tejido neural, de la médula espinal y del cerebro, a partir de las afecciones del tejido vascular subyacente.

Anexos: Artículo como co-autor y solicitud de patente



The Hemodynamic Mass Action of a Central Pattern Generator

Mayra Moreno-Castillo¹, Roberto Meza¹, **Jesús Romero-Vaca^{1*}**, Nayeli Huidobro¹, Abraham Méndez-Fernández¹, Jaime Martínez-Castillo², Pedro Mabil¹, Amira Flores^{1*} and Elias Manjarrez^{1*}

¹ Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Mexico, ² Centro de Investigación en Micro y Nanotecnología, Universidad Veracruzana, Veracruz, Mexico

OPEN ACCESS

Edited by:

Ioan Opris,
University of Miami, United States

Reviewed by:

Rune W. Berg,
University of Copenhagen, Denmark
Cunyi Fan,
Shanghai Jiao Tong University, China

*Correspondence:

Amira Flores
amira.flores@correo.buap.mx
Elias Manjarrez
eliasmanjarrez@gmail.com

*ORCID:

Jesús Romero-Vaca
orcid.org/0000-0002-3125-6901

Specialty section:

This article was submitted to
Neural Technology,
a section of the journal
Frontiers in Neuroscience

Received: 15 October 2019

Accepted: 13 January 2020

Published: 31 January 2020

Citation:

Moreno-Castillo M, Meza R,
Romero-Vaca J, Huidobro N,
Méndez-Fernández A,
Martínez-Castillo J, Mabil P, Flores A
and Manjarrez E (2020) The
Hemodynamic Mass Action of a
Central Pattern Generator.
Front. Neurosci. 14:38.
doi: 10.3389/fnins.2020.00038

The hemodynamic response is a neurovascular and metabolic process in which there is rapid delivery of blood flow to a neuronal tissue in response to neuronal activation. The functional magnetic resonance imaging (fMRI) and the functional near-infrared spectroscopy (fNIRS), for instance, are based on the physiological principles of such hemodynamic responses. Both techniques allow the mapping of active neuronal regions in which the neurovascular and metabolic events are occurring. However, although both techniques have revolutionized the neurosciences, they are mostly employed for neuroimaging of the human brain but not for the spinal cord during functional tasks. Moreover, little is known about other techniques measuring the hemodynamic response in the spinal cord. The purpose of the present study was to show for the first time that a simple optical system termed direct current photoplethysmography (DC-PPG) can be employed to detect hemodynamic responses of the spinal cord and the brainstem during the functional activation of the spinal central pattern generator (CPG). In particular, we positioned two DC-PPG systems directly on the brainstem and spinal cord during fictive scratching in the cat. The optical DC-PPG systems allowed the trial-by-trial recording of massive hemodynamic signals. We found that the “strength” of the flexor-plus-extensor motoneuron activities during motor episodes of fictive scratching was significantly correlated to the “strengths” of the brainstem and spinal DC-PPG signals. Because the DC-PPG was robustly detected in real-time, we claim that such a functional signal reflects the hemodynamic mass action of the brainstem and spinal cord associated with the CPG motor action. Our findings shed light on an unexplored hemodynamic observable of the spinal CPGs, providing a proof of concept that the DC-PPG can be used for the assessment of the integrity of the human CPGs.

Keywords: central pattern generation, hemodynamics, BOLD, DC-photoplethysmography, fNIRS

INTRODUCTION

The word plethysmograph comes from the Greek “plethismos” (becoming full or enlargement) and “graphos” (to write). This word is similar to the more known term “plethora,” meaning overabundance or the state of being full. In medicine, the word “plethysmograph” describes an instrument for registering variations in the volume of an organ, limb, or from the

whole body. In the case of the limbs, the plethysmography is used for registering variations in the volume of arms and legs, and hence the variations in the amount of blood in these limbs. Plethysmographs were also used a long time ago to measure lung volume via the law of Boyle-Mariotte (Haldane and Priestley, 1905; Cri  e et al., 2011). In 1938, Hertzman introduced the term “photoelectric plethysmography,” also known as “Photoplethysmography” (PPG), to estimate the blood supply of skin areas (Hertzman, 1938). This concept born from a previous study by Hertzman and Sealman (1937), in which they reported the photo-electrical pulsatile nature of blood supply from the fingertip.

The PPG is a simple optical method that employs a light source to illuminate the tissue and a photodetector that detects the reflected or transmitted light. A PPG signal can be separated into an oscillating (AC) and a steady-state (DC) component. The amplitude of both components is dependent upon the structure and flow in the microvascular bed, oxygen consumption, and other unknown factors (Kamal et al., 1989). From its implementation, this technique has commonly been employed in non-invasive devices, from single spot monitoring to more advanced imaging PPG (IPPG) and non-contact IPPG (Sun and Thakor, 2015), mainly to detect the AC-PPG component. The IPPG uses fast digital cameras and advanced software (for instance, see Liu et al., 2018). The PPG and contact/non-contact IPPG are widely employed for clinical purposes to obtain non-invasive recordings of blood pressure, oxygen saturation, respiration, and heart rate (for review, see Allen, 2007; Sun and Thakor, 2015). Recently, the PPG has been employed for quantitative assessment of hypertension (Liang et al., 2018), non-contact neonatal monitoring (Cobos-Torres et al., 2018), sympathetic nerve activity during cold stress (Buddha and Kyriacou, 2019), among a great variety of other applications.

In 2006, Phillips and colleagues developed an optical fiber PPG system to detect by reflectance “AC” PPG signals from the rat spinal cord (AC-PPG). They introduced such a system as a proof of concept that a similar system could be employed in the future in human subjects to examine mechanisms of spinal cord injury (Phillips et al., 2006). In a second report, Phillips et al. (2009) employed the same system to investigate whether the pulsation of small arteries in the rat spinal cord occurred before, during, and after compressive loads applied to the spinal cord. They found that the pulsatile AC-PPG signal amplitudes were reduced by compressive loads, with a reduction that persisted for at least 5 min after the compression ended. These authors suggested that ischemia may occur during compressive injury of the spinal cord. In a subsequent study, Phillips et al. (2013) employed the same AC-PPG fiber-optic probe to assess the regional perfusion of the spinal cord in anesthetized adult rats. They found a considerable inter-site and inter-subject variability in the AC-PPG signal compared to the Doppler flowmetry. They concluded that the AC-PPG could be employed to investigate pathological mechanisms of spinal cord injury. Recently, Cibert-Goton et al. (2015) employed the same technique of AC-PPG in the rat spinal cord to show that the spinal root avulsion does not significantly alter blood flow or tissue oxygen levels, suggesting

that ischemia may play a less prominent role in avulsion injury-induced pain than previously thought. In another study, Phillips et al. (2008) reported a similar fiber-optic cerebral oximetry system with AC–DC capabilities to be used in the brain tissue of patients recovering from neurosurgery or head injury.

These findings of AC-PPG signals from the rat spinal cord, and the fact that it is possible to obtain direct current photoplethysmography (DC-PPG) signals from the brain (Phillips et al., 2008), motivated our laboratory to examine the characteristics of the “functional DC-PPG” signals in the *in vivo* brainstem and spinal cord during a fictive motor task. Therefore, our study aimed to examine whether the functional DC-PPG is useful to detect the physiological activity of the brainstem and spinal cord in real-time during a scratching motor task in decerebrate cats. We suggest that the functional DC-PPG complements the AC-PPG, and it could also be employed for the real-time assessment of the central pattern generation function.

MATERIALS AND METHODS

Animal Preparation

We made an effort to reduce the number of cats used in this study, in agreement with the guidelines contained in the Mexican regulations (NOM-062-ZOO-1999) for the care and use of laboratory animals. With this idea, we performed experiments in seven adult cats (2.3–3.7 kg). Our experimental procedures are similar to those employed in previous reports from our group (Cuellar et al., 2009, 2018; Tapia et al., 2013; Meza et al., 2019). The animals were handled with care and introduced in a comfortable anesthesia-induction-box at a temperature of 22–29°C and 40–70% relative humidity. During surgery, we employed isoflurane at 2% to maintain deep anesthesia, and we applied atropine and dexamethasone (0.05 and 2 mg/kg, respectively). The ethics committee (CICUAL-Proyecto-00489) from the Benemérita Universidad Autónoma de Puebla approved our experimental protocol. We followed the guidelines contained in the Mexican regulations (NOM-062-ZOO-1999) for the care and use of laboratory animals and the corresponding National Institutes of Health Guide. We verified the level of anesthesia by testing for the lack of withdrawal reflexes and muscle tone and by the monitoring of arterial blood pressure from the carotid artery. During all the experiments, we administered a mix of bicarbonate (100 mm) and glucose (5%) solution throughout the radial vein at a rate of 5 ml/h.

For electrophysiological recording, we dissected the bilateral tibialis anterior (TA) and the medial gastrocnemius (MG) nerves. For optical recording, the lumbosacral spinal cord segments were exposed, and the dura mater was removed. We mounted the animal on a stereotaxic apparatus. The skin around the exposed tissues was used to form pools, which were filled with mineral oil (after placement of the electrodes and optic systems) and maintained at a constant temperature (37°C). We made a decerebration, which consisted of a mechanical precollicular–postmamillary transection with the complete removal of all tissue rostral to the transection and both cerebral hemispheres. To avoid bleeding, we applied SURGICEL   Absorbable Hemostat

on the exposed neural tissues. The empty cavity was filled with Agar-Agar. The anesthesia was discontinued 5 min after the decerebration verifying that the respiration, blood, pressure, and heartbeat were stable. We noted that even after the discontinuation of the anesthesia, the animals did not exhibit any sign of discomfort because they were correctly decerebrate, and all centers of conscious pain were carefully removed. To maintain blood pressure between 80 and 120 mmHg, we administered dextran and saline solutions as necessary. At the end of all surgical procedures, including the decerebration, we administered pancuronium bromide (Pavulon; Organon), and then the animals were artificially ventilated. We applied *d*-tubocurarine (0.1%) on the surface of the C1–C2 segments using a piece of cotton impregnated with it. Scratching was produced by a brief (about 1 s) mechanical stimulation of scratch reflex receptive fields located on the left pinna. At the end of the experiments, each animal was euthanized with an overdose of pentobarbital, and the spinal cord was recovered for histological analysis.

Implementation of Our Functional DC-PPG System to the Spinal Cord

The functional DC-PPG system for the spinal cord consisted of two elements: (1) a miniature red LED (with peak emission wavelength at 660 nm) placed below the spinal cord and above the remaining dura mater and vertebral body and (2) a Texas Instruments OPT-101 photodiode placed directly above the spinal cord, on its left side for left scratching (Figure 1A). The signal obtained from the functional DC-PPG system was expressed as a percentage of the transmitted light through the tissue.

The device was held in place using a micromanipulator and a series of holders and posts attached to the stereotaxic frame where the cat was placed. We take care to ensure that the device touched the surface of the spinal cord without pressing it. The metal components of both devices were adequately insulated. Once the functional DC-PPG system was placed, a small pool of black agar-agar was poured on and around the optical devices. The black color insured insulation from possible light pollution from the otherwise darkened room. The LED was driven by a MASTER-8 stimulator (AMPI, Israel), while the OPT-101 photodiode was directly connected to an input channel of a DIGIDATA (Molecular Devices) data acquisition system (in a free-run mode at a 10 kHz sampling-rate, without filtering to allow a continuous DC-recording without averaging).

LED-Illumination Protocol and Recording

Our LED-illumination protocol consisted of pulses of 150 ms of red light (peak emission wavelength at 660 nm) with 50 ms intervals of darkness (Figures 1B,C). We used an optical power meter PM100D-Thorlabs to measure the light intensity for different input voltages to the red LED delivered by the MASTER 8. We adjusted the amplitude of light pulses to 0.0027 mW (3.5 V from the MASTER 8). We simultaneously recorded the electroneurographic activity of the TA and MG nerves, as well as the functional DC-PPG signal from the lumbar L6 spinal

cord. The electroneurographic activity was amplified $\times 5000$ with Grass-Astromed (P511) amplifiers (0.05 Hz to 30 kHz band-pass).

Experimental Paradigm

The experimental paradigm consisted of the simultaneous electroneurographic recording of the TA and MG nerves, and the functional DC-PPG signals during scratching episodes elicited by brief mechanical stimulation (about 1 s) of the left pinna. To avoid fatigue, we elicited each scratching episode at least 30–60 s after the ending of a previous scratching episode.

We performed two different types of experiments. The first type of experiment (Figure 2) consisted of the simultaneous recording of the DC-PPG signal in the spinal cord and the electroneurographic activity in the TA and MG nerves. The second type of experiment (Figure 3) consisted of the simultaneous recording of the DC-PPG signals in the brainstem and the spinal cord, plus the electroneurographic activity in the TA and MG nerves.

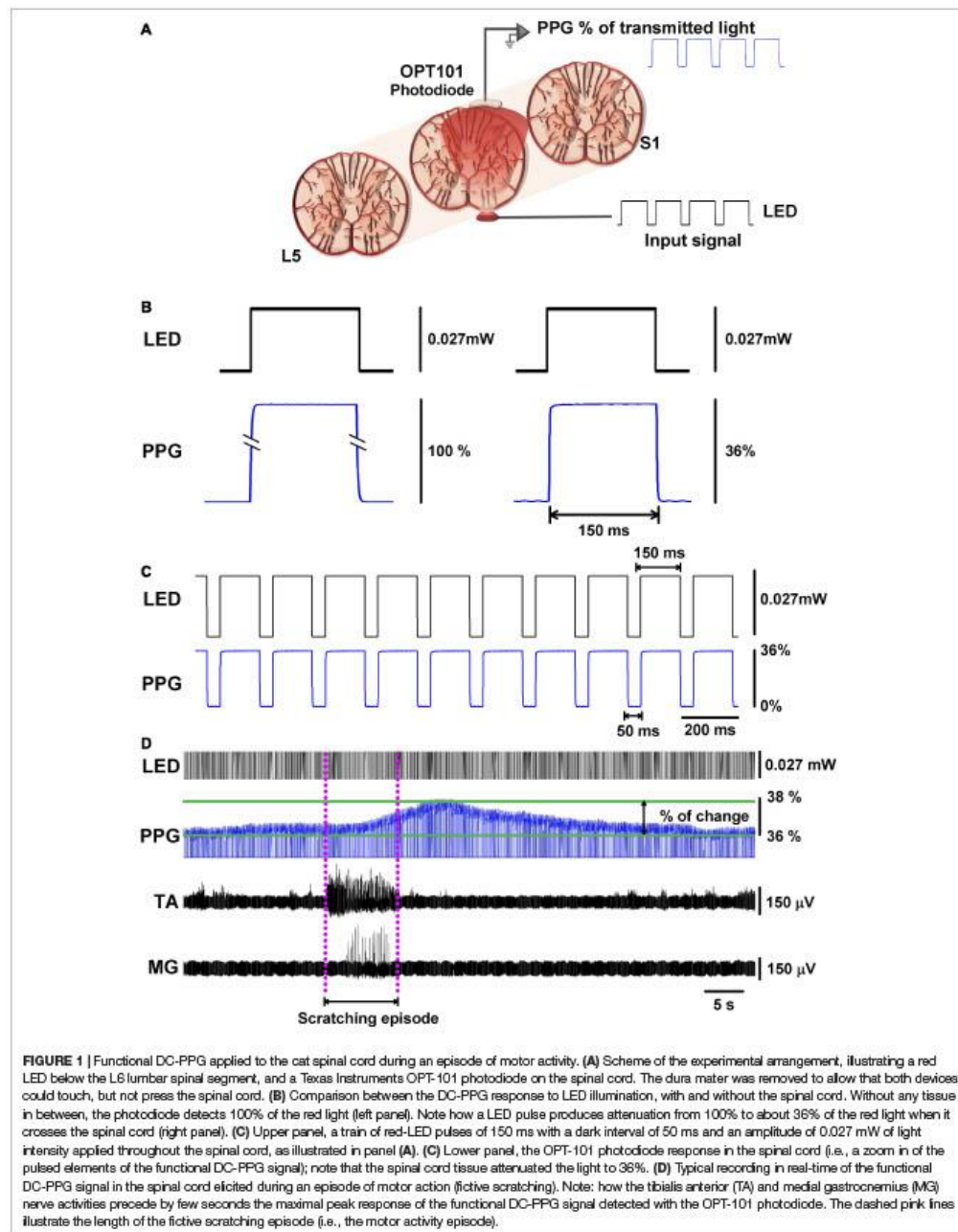
Statistical Analysis

We performed several non-parametric pairwise Signed-Rank Tests to examine the statistical significance for the difference between the “DC-PPG before scratching” versus “DC-PPG after scratching” in the spinal cord and the brainstem, under the null hypothesis that the differences between conditions were zero. All effects are reported as significant if $p < 0.05$. One-tailed probability was considered for significance. Furthermore, a Spearman’s rank correlation method was used to test for significant correlations between the normalized area of the DC-PPG signal and the normalized area of the TA and MG electroneurographic activity. The correlation coefficients were calculated, and all correlations are reported as significant if $p < 0.05$.

RESULTS

First Type of Experiment: Implementation of the Functional DC-PPG System to the Cat Spinal Cord During a Motor Task

Because we measured the hemodynamic activity of the spinal cord during a motor task, we termed it as “functional DC-PPG.” We show in Figure 1A the experimental arrangement. The left panel of Figure 1B shows that the LED illumination intensity of 0.027 mW produced 100% of the transmitted light when it is positioned directly on the photodiode without the spinal cord. The right panel of Figure 1B (see also Figure 1C) shows that the same LED illumination intensity of 0.027 mW produced a spinal PPG signal with 36% of the transmitted light when it travels through the spinal cord tissue. The relatively low percentage (36% in the spinal PPG) was expected due to the nature of this tissue (Jaques, 2013; Filatova et al., 2017). An important caveat is that our measurements were obtained on live tissue, which means that the light beam had to travel through 5–6 mm of the spinal cord with a continually fluctuating blood volume. Figure 1D shows a representative recording of the functional DC-PPG signal of



the spinal cord (namely also PPG, or spinal PPG) during a fictive scratching episode. As expected, the activities of the TA and MG nerves during scratching were followed by a functional DC-PPG signal in the lumbar spinal cord. In Figure 1D, the dashed pink lines illustrate the onset and end of the motor episode. Similar recordings as those illustrated in Figure 1, were obtained in all the cats and for all the scratching episodes.

If we assume that the observed DC-shift in the functional DC-PPG signal of the spinal cord is related to a change in blood volume and flow of the spinal cord during scratching, then we could hypothesize that the magnitude in the activity of the TA and MG nerves could be correlated with such DC-shift in the functional DC-PPG signal. We examined this hypothesis with quantitative analysis for all the scratching episodes in seven cats. Such analysis is explained in Figures 2A,B.

Figure 2A illustrates with green dashed lines the time window of a scratching episode and with pink dashed lines a window of the same duration around the maximal-amplitude point of the functional DC-PPG signal of the spinal cord. Figure 2B illustrates the same as Figure 2A but with the filtering of the functional DC-PPG signal and rectification and integration of the TA and MG nerve activity, and the sum of both signals (TA plus MG). It is relevant to highlight that in our analysis, we always assumed a “time window of the scratching episode” equal to the “time window of the functional DC-PPG signal in the spinal cord.”

After we obtained the sum of the rectified and integrated TA and MG signals, we calculated its area. We also calculated the area below the functional DC-PPG signal of the spinal cord in the time window explained above. We made these calculations for 141 scratching episodes in seven cats. The results are illustrated in Figures 2C–I. Each plot shows the correlation between normalized data of the area of the sum of the rectified and integrated TA and MG signals versus the area of the functional DC-PPG signal in the same time window. We obtained Pearson's correlation coefficients of 0.97, 0.97, 0.94, 0.87, 0.96, 0.91, and 0.84 for all the graphs, with a statistical significance of $p \leq 0.005$ or $p < 0.0001$. Figure 2J shows pooled data for all the animals. The Spearman's rank correlation method was used to test for significant correlations between the normalized area of the DC-PPG signal and the normalized area of the TA and MG electroencephalographic activity. We obtained a $p < 0.0001$ with 140 degrees of freedom and a correlation coefficient of 0.87. This statistical analysis shows the reproducibility of our results. The blue histogram in Figure 3A illustrates the mean latency between the rectified and integrated TA + MG signals (red triangle) versus the functional DC-PPG signal of the spinal cord (red triangle) for these seven animals in 141 scratching episodes (mean latency = 8.3 ± 2.4 s, blue histogram).

Second Type of Experiment: Implementation of the Functional DC-PPG System to the Cat Brainstem During a Motor Task

We also examined the correlation between normalized data of the rectified and integrated TA + MG signals versus the functional DC-PPG signal in the brainstem for two animals in 74 scratching

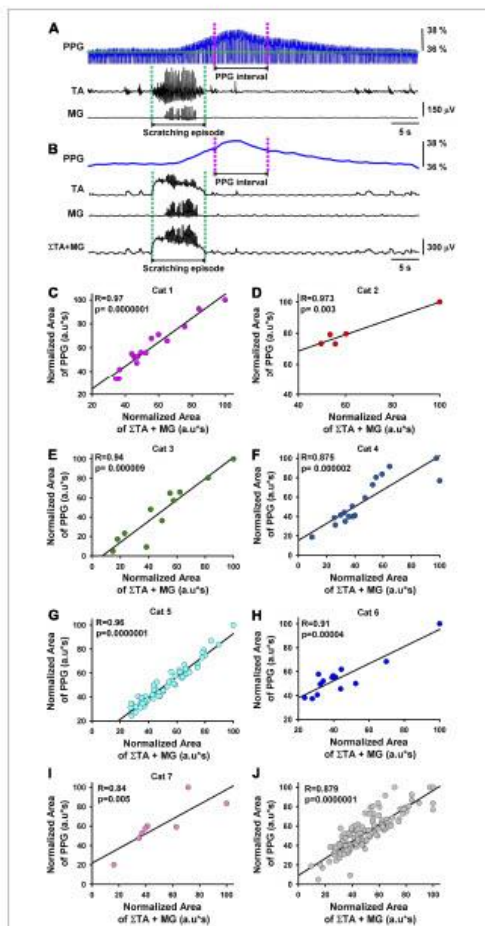


FIGURE 2 | Correlation between the functional DC-PPG in the spinal cord versus the summated motor response during episodes of motor action. (A) The same as Figure 1D, but for another episode of fictive scratching. A functional DC-PPG interval was defined as follows: (1) The magenta lines delimit the duration of the functional DC-PPG interval equal to the duration of the scratching episode, indicated with green lines. (2) We positioned the functional DC-PPG interval around its maximal peak amplitude. (B) The same as in panel (A), but after the functional DC-PPG signal was lowpass filtered, and the TA and MG electroencephalograms were integrated and rectified. The lower panel in panel (B) shows a sum of the integrated and rectified TA and MG signals. (C–I) Results obtained from normalized data of seven cats. The graph shows the “normalized area below the summated TA and MG motor responses” versus the “normalized area below the functional DC-PPG signal” in the spinal cord during the fictive scratching episodes. (J) Superimposed graphs illustrated in Panels (C–I), Pearson's correlation with 140 degrees of freedom (df). The coefficient (R) and p-value are indicated. Note that all correlations are statistically significant $p = 0.005$ in one case and $p < 0.0001$ for all the other cases.

episodes. Figures 3B,D show such correlations obtained from these two animals (Pearson's correlation coefficients of 0.92 and 0.95, $p < 0.001$). We also analyzed the correlation between the areas of the PPG signal recorded in the obex versus the PPG signal recorded in the spinal cord (see Figures 3C,E). The correlation

between both PPG signals was also highly significant, with Pearson's correlation coefficients of 0.97 and 0.74, and $p < 0.01$. The magenta histogram in Figure 3A illustrates the mean latency between the functional DC-PPG signal of the brainstem (red triangle) versus the functional DC-PPG signal of the spinal cord

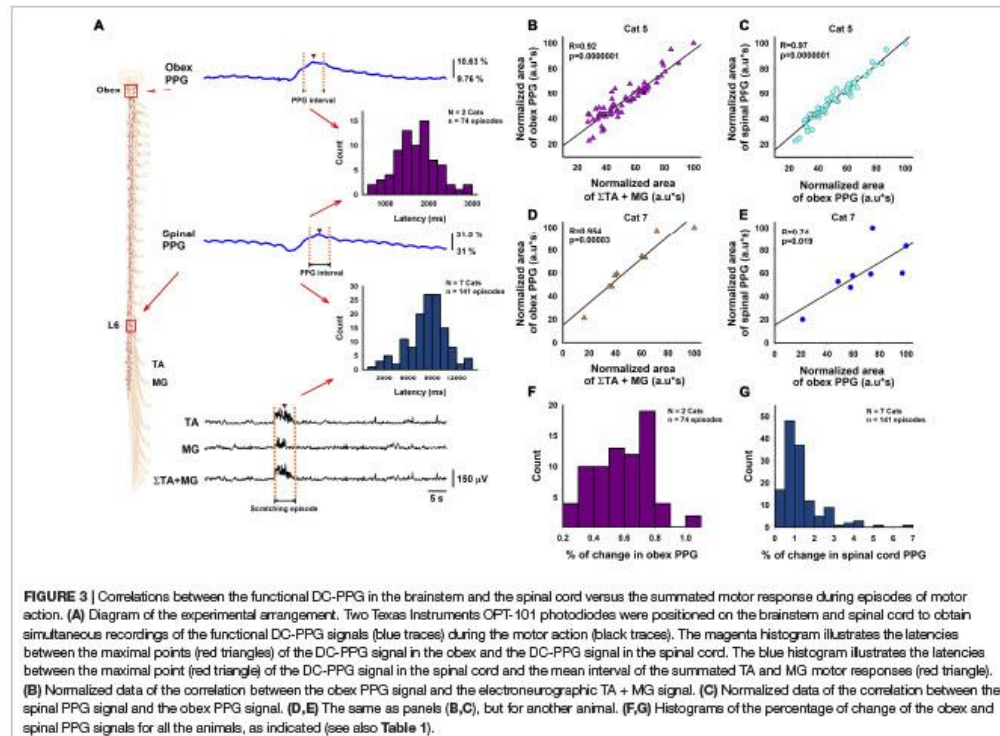


FIGURE 3 | Correlations between the functional DC-PPG in the brainstem and the spinal cord versus the summated motor response during episodes of motor action. (A) Diagram of the experimental arrangement. Two Texas Instruments OPT-101 photodiodes were positioned on the brainstem and spinal cord to obtain simultaneous recordings of the functional DC-PPG signals (blue traces) during the motor action (black traces). The magenta histogram illustrates the latencies between the maximal points (red triangles) of the DC-PPG signal in the obex and the DC-PPG signal in the spinal cord. The blue histogram illustrates the latencies between the maximal point (red triangle) of the DC-PPG signal in the spinal cord and the mean interval of the summated TA and MG motor responses (red triangle). (B) Normalized data of the correlation between the obex PPG signal and the electromyographic TA + MG signal. (C) Normalized data of the correlation between the spinal PPG signal and the obex PPG signal. (D,E) The same as panels (B,C), but for another animal. (F,G) Histograms of the percentage of change of the obex and spinal PPG signals for all the animals, as indicated (see also Table 1).

TABLE 1 | Statistical significance of normalized amplitude of DC-PPG signal.

		First type of experiment (spinal cord and nerves)							Second type of experiment (brainstem, spinal cord, and nerves)		Global
		Cat 1	Cat 2	Cat 3	Cat 4	Cat 5	Cat 6	Cat 7	Cat 5	Cat 7	
Count	Number of Scratching episodes	16	8	11	14	65	18	9	65	9	215
Mean	Percentage of change	9.88 $\pm$ 3.7	0.4 $\pm$ 0.14	2.19 $\pm$ 1.89	2.67 $\pm$ 1.33	1.2 $\pm$ 5.55	2.51 $\pm$ 0.59	5.19 $\pm$ 3.23	4.66 $\pm$ 1.26	2.87 $\pm$ 0.51	3.35 $\pm$ 4.14
Median	Percentage of change	8.34	0.35	0.89	2.45	1.91	2.31	4.43	4.82	3.01	2.85
T		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
z		-3.54	-2.52	-2.94	-3.29	-6.59	-3.72	-2.67	-7.02	-2.75	-12.48
r		-0.89	-0.89	-0.88	-0.87	-0.82	-0.88	-0.89	-0.87	-0.92	-0.85
p		0.0002	0.006	0.0015	0.005	0.0000001	0.00009	0.004	0.0000001	0.003	0.0000001

(red triangle) for these two animals in 74 scratching episodes (mean latency = 1.7 ± 0.4 s). As expected, this latency between both DC-PPG signals is similar to the latency between the obex slow potential and the spinal cord DC-shift associated with the scratching episodes (see Tapia et al., 2013). All relevant data is contained within the manuscript.

Table 1 shows the number of scratching episodes analyzed, as well as the mean and median of the percentage of change in the DC-PPG signal (i.e., the % of change between the green lines in Figure 1D) for all the animals. The % of change in the DC-PPG signal compares the “DC-PPG before scratching” versus the maximal “DC-PPG after scratching.” The *p*-values were obtained from a pairwise Signed Rank test. Note the number of scratching episodes per animal was from 8 to 65. In fact, our results were obtained from the analysis of a total number of 141 scratching episodes in seven cats for the first type of experiment, and a total number of 74 scratching episodes in two cats for the second type of experiment (see also Figures 3F,G). Note that in all of these scratching episodes, we obtained a statistically significant “% of change” in the DC-PPG signal ($p < 0.05$). This statistical analysis shows the reproducibility of our results.

DISCUSSION

We found that the brainstem and spinal DC shifts in the functional DC-PPG signals are associated with the magnitude of the motor output during a fictive motor task in the cat (to our knowledge, this is the first report of such finding). Although there is the limitation that our current application is invasive and a specific cause-effect explanation is beyond the scope of this study, this observable effect was quantified in order to obtain the first approach to this significant correlation. However, we suggest that relevant hemodynamic processes may be occurring during such functional DC-PPG signals. Our results represent a proof-of-concept that a similar functional-DC-PPG system, based on the non-invasive functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) technique, could be employed in the human spinal cord and brainstem to access the integrity of neuronal circuits in such regions during motor tasks involving DC-shift changes in their PPG signals.

Proof-of-concept tests have been reported before (e.g., Phillips et al., 2006, 2009, 2013; Cibert-Goton et al., 2015) but for pulsatile AC-PPG signals that were obtained in the rat spinal cord by a light reflection method. In such studies, the aim was the investigation of the possible use of the AC-PPG as a diagnostic tool for the evolution of spinal compressive injuries. However, the purpose of the present work was to look into the viability of the functional DC-PPG to obtain reliable optical signals of the spinal cord and brainstem correlated to the spinal motoneuron output during a motor task. Because two DC shifts in the functional DC-PPG signals were detected in the lumbar spinal cord and brainstem during scratching, it is possible that such DC shifts indirectly reflect the concerted activity of brainstem-spinal central pattern generator (CPG) networks and motoneurons.

We observed a time lag of about 8.3 ± 2.4 s between the electroneurographic activity of the TA + MG nerves and the functional DC-PPG recorded in the spinal cord. This finding suggests that the functional DC-PPG represents a hemodynamic response associated with the metabolic demands of the motor task in the spinal cord. This hemodynamic response may involve the activation of various cell types, like astrocytes, endothelial cells of blood vessels, and pericytes, among other cells in the lumbar spinal cord. It is also plausible that during such hemodynamic response these cells can take control of the dilatation or constriction of the spinal vessels intermixed in the neuronal tissue, thus dictating the amount of oxygen and glucose that can reach the active neuronal ensembles (Chen et al., 2012; Sedwick, 2012). We suggest that such a cascade of hemodynamic events last about 8.3 ± 2.4 s in our experiments, thus explaining the latency between the TA + MG motor output and the functional DC-PPG signal in the spinal cord. However, such mechanisms must be demonstrated in future experiments. One point supporting our suggestions is the similitude in the delay observed for the hemodynamic response in the functional magnetic resonance imaging (fMRI). In the brain, the fMRI measures the subsequent demand for oxygenated blood that follows about 6 s after the neuronal electrical response (Liao et al., 2002). Such parallelism in the time lag between our functional DC-PPG in the spinal cord (8.3 ± 2.4 s) and the fMRI (around 6 s) is notable, and it should be examined in detail in future experiments. In this context, our device, and methods also provide a proof-of-concept for the viability of a functional DC-PPG system for functional imaging, which could be as powerful as the fMRI.

Our findings are consistent with those obtained in the human brain with the simultaneous use of the fNIRS and the fMRI (for review see Steinbrink et al., 2006; Scarapicchia et al., 2017). There is compelling evidence that the changes in the BOLD fMRI signal are related to changes in deoxy-Hb, total-Hb, and regional cerebral blood volume during a variety of sensory, motor, cognitive tasks and resting states (Sakatani et al., 2007; Cui et al., 2011; Duan et al., 2012; Quaresima et al., 2012; Sasai et al., 2012; Tong et al., 2012; Sato et al., 2013; Yuan and Ye, 2013; Fabiani et al., 2014; Hocke et al., 2015; Noah et al., 2015; Anwar et al., 2016; Vannasing et al., 2016). Our findings are also supported by studies in mice with the simultaneous recording of fluorescent-based calcium recordings and BOLD fMRI signals (Schlegel et al., 2018). In this context, our findings suggest that a variant of the fNIRS in DC mode could also be developed to explore functional optical signals related to specific changes in deoxy-Hb, oxy-Hb, total-Hb, and/or regional cerebral blood volume contributing to the hemodynamic response of the spinal cord and the brainstem. Recent studies employing functional ultrasound imaging of spinal cord hemodynamic responses to epidural stimulation (Song et al., 2019) provide support to such possibility.

We conclude that it is possible to record in real-time a reliable functional-DC-PPG hemodynamic signal in the spinal cord and brainstem during a motor task. This suggests that the functional-DC-PPG is a hemodynamic method that could be employed

for the assessment of the CPG integrity of the spinal cord and brainstem.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation, to any qualified researcher.

ETHICS STATEMENT

The animal study was reviewed and approved by the Ethics Committee of Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (CICUAL-Proyecto-00489).

REFERENCES

- Allen, J. (2007). Photoplethysmography and its application in clinical physiological measurement. *Physiol. Meas.* 8, R1–R39.
- Anwar, A. R., Muthalib, M., Perrey, S., Galka, A., Granert, O., Wolff, S., et al. (2016). Effective connectivity of cortical sensorimotor networks during finger movement tasks: a simultaneous fNIRS, fMRI, EEG study. *Brain Topogr.* 29, 645–660. doi: 10.1007/s10548-016-0507-1
- Budidha, K., and Kyriacou, P. A. (2019). Photoplethysmography for quantitative assessment of sympathetic nerve activity (SNA) during cold stress. *Front. Physiol.* 9:1863. doi: 10.3389/fphys.2018.01863
- Chen, Q., Jiang, L., Li, C., Hu, D., Bu, J. W., Cai, D., et al. (2012). Haemodynamics-driven developmental pruning of brain vasculature in zebrafish. *PLoS Biol.* 10:e1001374. doi: 10.1371/journal.pbio.1001374
- Cibert-Goton, V., Phillips, J. P., and Shortland, P. J. (2015). Vascular changes associated with spinal root avulsion injury. *Somatosens. Mot. Res.* 32, 158–162. doi: 10.3109/08990220.2015.1018511
- Cobos-Torres, J. C., Abderrahim, M., and Martínez-Ortega, J. (2018). Non-Contact, simple neonatal monitoring by photoplethysmography. *Sensors* 18:E4362. doi: 10.3390/s18124362
- Criée, C. P., Soricter, S., Smith, H. J., Kardos, P., Merget, R., Heise, D., et al. (2011). Body plethysmography—its principles and clinical use. *Respir. Med.* 105, 959–971. doi: 10.1016/j.rmed.2011.02.006
- Cuellar, C. A., De La Torre Valdovinos, B., Huidobro, N., Delgado-Lezama, R., Ornelas-Kobayashi, R., and Manjarrez, E. (2018). The spinal neurons exhibit an ON-OFF and OFF-ON firing activity around the onset of fictive scratching episodes in the cat. *Front. Cell Neurosci.* 12:68. doi: 10.3389/fncel.2018.00068
- Cuellar, C. A., Tapia, J. A., Juárez, V., Quevedo, J., Linares, P., Martínez, L., et al. (2009). Propagation of sinusoidal electrical waves along the spinal cord during a fictive motor task. *J. Neurosci.* 29, 798–810. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3408-08.2009
- Cui, X., Bray, S., Bryant, D. M., Glover, G. H., and Reiss, A. L. (2011). A quantitative comparison of NIRS and fMRI across multiple cognitive tasks. *Neuroimage* 54, 2808–2821. doi: 10.1016/j.neuroimage.2010.10.069
- Duan, L., Zhang, Y., and Zhu, C. (2012). Quantitative comparison of resting-state functional connectivity derived from fNIRS and fMRI: a simultaneous recording study. *Neuroimage* 60, 2008–2018. doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.02.014
- Fabiani, M., Gordon, B. A., Macdon, E. L., Pearson, M. A., Brumback-Peltz, C. R., Low, K. A., et al. (2014). Neurovascular coupling in normal aging: a combined optical ERP and fMRI study. *Neuroimage* 85, 592–607. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.04.113
- Filatova, S. A., Shchervakov, I. A., and Tsvetkov, V. B. (2017). Optical properties of animal tissues in the wavelength range from 350 to 2600 nm. *J. Biomed. Opt.* 22:35009. doi: 10.1117/1.JBO.22.3.035009
- Halane, J. S., and Priestley, J. G. (1905). The regulation of the lung-ventilation. *J. Physiol.* 32:3–4, 225–266.
- Hertzman, A. (1938). The blood supply of various skin areas as estimated by the photoelectric plethysmograph. *Am. J. Physiol.* 1924, 329–340.
- Hertzman, A. B., and Sealman, C. R. (1937). Observations on the finger volume pulse recorded photo-electrically. *Am. J. Physiol.* 119, 334–335.
- Hocke, L. M., Cayetano, K., Tong, Y., and Frederick, B. (2015). Optimized multimodal functional magnetic resonance imaging/near-infrared spectroscopy probe for ultrahigh-resolution mapping. *Neurophotonics* 2:045004. doi: 10.1117/1.NPh.2.4.045004
- Jakes, S. L. (2013). Optical properties of biological tissues: a review. *Phys. Med. Biol.* 58, R37–R61. doi: 10.1088/0031-9155/58/1/R37
- Kamal, A. A., Harness, J. B., Irving, G., and Mearns, A. J. (1989). Skin photoplethysmography—a review. *Comput. Methods Programs Biomed.* 28, 257–269.
- Liang, Y., Chen, Z., Ward, R., and Elgendy, M. (2018). Hypertension assessment using photoplethysmography: a risk stratification approach. *J. Clin. Med.* 8:E12. doi: 10.3390/jcm8010012
- Liao, C. H., Worsley, K. J., Poline, J. B., Aston, J. A., Duncan, G. H., and Evans, A. C. (2002). Estimating the delay of the fMRI response. *Neuroimage* 16(3 Pt 1), 593–606.
- Liu, L., Zhao, Y., Kong, L., Liu, M., Dong, L., Ma, F., et al. (2018). Robust real-time heart rate prediction for multiple subjects from facial video using compressive tracking and support vector machine. *J. Med. Imaging* 5:024503. doi: 10.1117/1.JMI.5.2.024503
- Meza, R., Huidobro, N., Moreno-Castillo, M., Méndez-Fernández, A., Flores-Hernández, J., Flores, A., et al. (2019). Resetting the respiratory rhythm with a spinal central pattern generator. *eNeuro* 6:ENEURO.116-19. doi: 10.1523/ENEURO.0116-19.2019
- Nash, J. A., Ono, Y., Nomoto, Y., Shimada, S., Tachibana, A., Zhang, X., et al. (2015). fMRI validation of fNIRS measurements during a naturalistic task. *J. Vis. Exp.* 100:e52116. doi: 10.3791/52116
- Phillips, J. P., Cibert-Goton, V., Langford, R. M., and Shortland, P. J. (2013). Perfusion assessment in rat spinal cord tissue using photoplethysmography and laser Doppler flux measurements. *J. Biomed. Opt.* 18:037005. doi: 10.1117/1.JBO.18.3.037005
- Phillips, J. P., George, K. J., Kyriacou, P. A., and Langford, R. M. (2009). Investigation of photoplethysmographic changes using a static compression model of spinal cord injury. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2009, 1493–1496. doi: 10.1109/IEMBS.2009.5334166
- Phillips, J. P., Kyriacou, P. A., George, K. J., Priestley, J. V., and Langford, R. M. (2006). An optical fiber photoplethysmographic system for central nervous system tissue. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 1, 803–806.
- Phillips, J. P., Langford, R. M., Kyriacou, P. A., and Jones, D. P. (2008). Preliminary evaluation of a new fibre-optic cerebral oximetry system. *Physiol. Meas.* 29, 1383–1396. doi: 10.1088/0967-3334/29/12/003
- Quaresima, V., Biscanti, S., and Ferrari, M. (2012). A brief review on the use of functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) for language imaging studies in

- human newborns and adults. *Brain Lang.* 121, 79–89. doi: 10.1016/j.bandl.2011.03.009
- Sakatani, K., Murata, Y., Fujiwara, N., Hoshino, T., Nakamura, S., Kano, T., et al. (2007). Comparison of blood-oxygen-level-dependent functional magnetic resonance imaging and near-infrared spectroscopy recording during functional brain activation in patients with stroke and brain tumors. *J. Biomed. Opt.* 12:062110. doi: 10.1117/1.2823036
- Sasai, S., Homae, F., Watanabe, H., Sasaki, A. T., Tanabe, H. C., Sadato, N., et al. (2012). A NIRS-fMRI study of resting state network. *Neuroimage* 63, 179–193. doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.06.011
- Sato, H., Yahata, N., Funane, T., Takizawa, R., Katura, T., Atsumori, H., et al. (2013). A NIRS-fMRI investigation of prefrontal cortex activity during a working memory task. *Neuroimage* 83, 158–173. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.06.043
- Scarapicchia, V., Brown, C., Mayo, C., and Gawryluk, J. R. (2017). Functional magnetic resonance imaging and functional near-infrared spectroscopy insights from combined recording studies. *Front. Hum. Neurosci.* 11:419. doi: 10.3389/fnhum.2017.00419
- Schlegel, F., Sych, Y., Schroeter, A., Stobart, J., Weber, B., Helmchen, F., et al. (2018). Fiber-optic implant for simultaneous fluorescence-based calcium recordings and BOLD fMRI in mice. *Nat. Protoc.* 13, 840–855. doi: 10.1038/nprot.2018.003
- Sedwick, C. (2012). Pruning brain vasculature for efficiency. *PLoS Biol.* 10:e1001375. doi: 10.1371/journal.pbio.1001375
- Song, P., Cuellar, C. A., Tang, S., Islam, R., Wen, H., Huang, C., et al. (2019). Functional ultrasound imaging of spinal cord hemodynamic responses to epidural electrical stimulation: a feasibility study. *Front. Neurol.* 10:279. doi: 10.3389/fneur.2019.00279
- Steinbrink, J., Villringer, A., Kempf, F., Haux, D., Boden, S., and Obrig, H. (2006). Illuminating the BOLD signal: combined fMRI-fNIRS studies. *Magn. Reson. Imaging* 24, 495–505.
- Sun, Y., and Thakor, N. (2015). Photoplethysmography revisited: from contact to noncontact, from point to imaging. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 63, 463–477. doi: 10.1109/TBME.2015.2476337
- Tapia, J. A., Trejo, A., Linares, P., Alva, J. M., Kristeva, R., and Manjarrez, E. (2013). Reticular activating system of a central pattern generator: premovement electrical potentials. *Physiol. Rep.* 1:e00129. doi: 10.1002/phy2.129
- Tong, Y., Hodges, L. M., Licata, S. C., and Frederick, B. D. (2012). Low-frequency oscillations measured in the periphery with near-infrared spectroscopy are strongly correlated with blood oxygen level-dependent functional magnetic resonance imaging signals. *J. Biomed. Opt.* 17:106004. doi: 10.1117/1.JBO.17.10.106004
- Vannasing, P., Cornaggia, I., Vanasse, C., Tremblay, J., Diadori, P., Perreault, S., et al. (2016). Potential brain language reorganization in a boy with refractory epilepsy: an fNIRS-EEG and fMRI comparison. *Epilepsy Behav. Case Rep.* 5, 34–37. doi: 10.1016/j.ebcr.2016.01.006
- Yuan, Z., and Ye, J. (2013). Fusion of fNIRS and fMRI data: identifying when and where hemodynamic signals are changing in human brains. *Front. Hum. Neurosci.* 7:676. doi: 10.3389/fnhum.2013.00676

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2020 Moreno-Castillo, Meza, Romero-Vaca, Huidobro, Méndez-Fernández, Martínez-Castillo, Mabil, Flores and Manjarrez. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Solicitud de patente

gob.mx

Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial

Solicitud de Patente de Invención o de Registro de Modelo de Utilidad
o de Registro de Diseño Industrial

Homoclave del formato

IMPI-00-009

Fecha de publicación del formato en el DOF

03 / 09 / 2019

Datos generales de la solicitud

Marque con una X al tipo de solicitud

☒ Solicitud de Patente de Invención ☐ PCT

☐ Solicitud de Registro de Modelo de Utilidad ☐ PCT

☐ Solicitud de Registro de Diseño Industrial, especifique:

☐ Modelo Industrial ☐ Dibujo Industrial

Folio y Fecha de Recepción

INSTITUTO MEXICANO DE
LA PROPIEDAD INDUSTRIAL
Dirección Divisinal de Patentes
OFICINA REGIONAL CENTRO

Solicitud: **MX/1/2019/015232**
Expediente: **15/DIC/2019** Hora: **09:48:53**
Fecha: **MX/1/2019/066482** **038825**
Folio: **2019-10-15-000451**

Datos generales del o de los solicitante(s)

Personas físicas

CURP (obligatorio):
Nombre(s):
Primer apellido:
Segundo apellido:
Nacionalidad:
Teléfono (lada, número, extensión):
Correo electrónico:

☐ El solicitante es el inventor ☐ Continúa en anexo

Personas morales

RFC (obligatorio): **UAP370423PP3**
Denominación o razón social:
BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
Nacionalidad: **MEXICANA**
Teléfono (lada, número, extensión): **222295500 3058**
Correo electrónico: **juridicobuap@hotmail.com**

☐ Continúa en anexo

Domicilio del o de los solicitante(s)

Código postal: **72000**
Calle: **4 SUR**
Número exterior: **104**
Colonia: **CENTRO**
Municipio o demarcación territorial: **PUEBLA**
Entidad Federativa: **PUEBLA**
País: **MÉXICO**

Número interior:

Localidad: **PUEBLA**

Entre calles (opcional):

Calle posterior (opcional):

Datos generales del o de los inventor(es) o diseñador(es)

CURP (obligatorio): **MALE670330HDFNPL01**
Nombre(s): **ELIAS**
Primer apellido: **MANJARREZ**
Segundo apellido: **LÓPEZ**
Nacionalidad: **MEXICANA**
Teléfono (lada, número, extensión): **222295500**

Correo electrónico: **eliasmanjarrez@gmail.com**

☒ Continúa en anexo

MÉXICO
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

CONAMER
CONSEJO NACIONAL
DE MARCAS Y
DISEÑOS INDUSTRIALES

IMPI
INSTITUTO MEXICANO
DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

Contacto:

Arenal # 250, Pueblo Santa María Tapanatepec, Xicatlán, CP. 16040, Ciudad de México
Teléfono: 01-55-147-40-00 o la Ciudad de México y áreas metropolitanas, del interior de la República sin
costo para el usuario 080-919-02-05; exteniones 10001, 10030 y 10024.
Correo electrónico: datos@impi.mx

		
Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial		
Domicilio del o de los inventor(es) o diseñador(es)		
Código postal: 72570		
Calle: INSTITUTO DE FISIOLÓGIA, CIUDAD UNIVERSITARIA (Por ejemplo: Avenida Insurgentes Sur, Boulevard Anillo Circunferencial, Calles, Carreteras, etc.)		
Número exterior: S/N	Número interior:	
Colonia: SAN MANUEL (Por ejemplo: Ampliación Juárez, Residencial Hidalgo, Fraccionamiento, Sección, etc.)		
Municipio o demarcación territorial: PUEBLA	Localidad: PUEBLA	
Entidad Federativa: PUEBLA	Entre calles (opcional):	
País: MÉXICO	Calle posterior (opcional):	
Datos generales del o de los apoderado(s)		
CURP (opcional):	Registro General de Poderes (opcional): DDAJ-26065	
Nombre(s): ROSA ISELA	RFC (opcional):	
Primer apellido: ÁVALOS	Teléfono (lada, número, extensión):	
Segundo apellido: MÉNDEZ	222295500 ext.3058	
Correo electrónico: juridicobuap@hotmail.com	☐ Continúa en anexo	
Domicilio para oír y recibir notificaciones		
Código postal: 72000		
Calle: 4 SUR (Por ejemplo: Avenida Insurgentes Sur, Boulevard Anillo Circunferencial, Calles, Carreteras, etc.)		
Número exterior: 104	Número interior:	
Colonia: CENTRO (Por ejemplo: Ampliación Juárez, Residencial Hidalgo, Fraccionamiento, Sección, etc.)		
Municipio o demarcación territorial: PUEBLA	Localidad: PUEBLA	
Entidad Federativa: PUEBLA	Entre calles (opcional):	
País: MÉXICO	Calle posterior (opcional):	
Datos generales de los autorizados para oír y recibir notificaciones		
Nombre(s):	Primer apellido:	Segundo apellido:
Jair Eric	Vázquez	Torres
CURP (opcional):		☒ Continúa en anexo
Datos de la solicitud		
Denominación o título de la invención, Modelo de Utilidad o Diseño Industrial: BARÓMETRO CEREBROESPINAL DE ONDAS DE MAYER, DISPOSITIVO Y METODO		
Fecha de divulgación previa	(DD / MM / AAAA):	/ /
Divisional de la solicitud		
No. Expediente en trámite:	Figura jurídica:	
Fecha de presentación (DD / MM / AAAA):	/ /	
PCT		
No. de solicitud internacional:		
Fecha de presentación internacional (DD / MM / AAAA):	/ /	
Prioridad o prioridades reclamada(s)		
País (oficina) de origen:	Fecha de presentación (DD/MM/AAA):	Número de serie:
/	/	
		☐ Continúa en anexo
Bajo protesta de decir verdad, manifiesto que los datos asentados en esta solicitud son ciertos.		
 Mtra. Rosa Isela Ávalos Méndez Nombre y firma del solicitante o su apoderado.		
		

Centro:
Arenal e 550, Puente Santa María Tepicpan, Toluquímica, C.P. 14020, Ciudad de México.
Teléfono: 55-52-34-67-68 en la Ciudad de México y área metropolitana, del interior de la República sin
costo para el usuario 800-570-59-40, extensiones 10098, 10030 y 10024.
Correo electrónico: dpa@impi.gob.mx

Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial

Documentos anexos (validación)

- ☐ Comprobante de pago. Original.
- ☐ Documento que acredite la personalidad del mandatario, en su caso. Original o copia certificada.
- ☐ Constancia de inscripción en el Registro General de Patentes del IMPI, en su caso. Copia.
- ☐ Documento que acredite el carácter del causahabiente o la cesión de derechos. Original o copia certificada.
- ☐ Documento(s) comprobatorio(s) de divulgación previa, en su caso. Original o copia certificada.
- ☐ Documento(s) de prioridades, en su caso. Copia certificada.
- ☐ Escrito solicitando el descuento del 50%, cuando corresponda. Original.
- ☐ Traducción de los documentos presentados en idioma distinto al español, en su caso. Original.
- ☐ Legalización o apostilla de los documentos anexos provenientes del extranjero, en su caso. Original.
- ☐ Descripción y reivindicación(es). Dos ejemplares.
- ☐ Resumen de la descripción de la invención. Dos ejemplares.
- ☐ Dibujo(s), en su caso. Dos ejemplares.
- ☐ Constancia de depósito de material biológico. Original o copia certificada.
- ☐ Listado de secuencias. Método de almacenamiento de datos y un ejemplar impreso o dos ejemplares impresos.
- ☐ Hoja adicional complementaria "Datos generales del o de los solicitantes" / "Datos generales del o de los inventores o diseñadores o creadores", en su caso. Original.
- ☐ Hoja adicional complementaria "Datos generales del o de los apoderados" / "Autorizados para oír y recibir notificaciones", en su caso. Original.
- ☐ Hoja adicional complementaria al punto "División de la solicitud", en su caso. Original.
- ☐ Hoja adicional complementaria al punto "Prioridad o prioridades reclamadas", en su caso. Original.

Número total de hojas recibidas

Términos y condiciones

Información sobre el tratamiento de datos personales.

Los datos personales que proporcione al presentar la solicitud y con motivo del trámite de la misma, serán tratados por el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI) a través de la Dirección Divisiva de Patentes (DDP) con la finalidad de dar trámite a la solicitud, determinar el cumplimiento de los requisitos exigidos por la normatividad nacional e internacional aplicable, contactar al solicitante, su representante y autorizados en relación al trámite, notificar actos y resoluciones que así lo requieran y en su caso publicar la solicitud y el título correspondiente, en cumplimiento de la Ley de la Propiedad Industrial (LPI) y demás disposiciones aplicables, para facilitar información al público y la expresión de derechos. La DDP no realiza tratamiento de datos que requieran la protección expresa, de tener lugar el mismo, se realizará consentimiento expreso, que podrá ser revocado mediante solicitud ante la Unidad de Transparencia. El área de privacidad integral puede ser consultada en <https://www.gob.mx/impi> o en las instalaciones del IMPI. (Fecha de actualización: 10/05/2018).

Los interesados podrán ejercer sus derechos de acceso y corrección ante la Dirección Divisiva de Patentes, con domicilio en Avenida 550, Puesto Santa María Tepepan, Xochimilco, C.P. 16020, Ciudad de México. Teléfono: 55-57-14-07-08 en la Ciudad de México y Área Metropolitana, del interior de la República sin costo para el usuario 800-570-59-93, extensiones 10096, 10030 y 10026. Correo electrónico: dpd@impi.gob.mx

Presentación y notificaciones.

El horario para la recepción de documentos, atención al público y entrega de expedientes en las distintas oficinas del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial, durante los días que, ante considero como hábiles, será de las 9:00 a las 16:00 horas.

La solicitud y sus anexos deben presentarse en la Coordinación Departamental de Recepción y Control de Documentos de la Dirección Divisiva de Patentes de este Instituto, con domicilio en Avenida 550, Puesto Santa María Tepepan, Xochimilco, C.P. 16020, Ciudad de México. También puede ser presentada en las Delegaciones o Subdelegaciones Federales de la Secretaría de Economía.

También podrá recibir la solicitud mediante correo certificado con acuse de recibo, servicio de mensajería, paquetería u otros equivalentes o bien, a través del sistema en línea, en las modalidades previstas en el artículo 5.- BIS del Reglamento de la Ley de la Propiedad Industrial y el Título Cuarto del Acuerdo que establece las reglas para la presentación de solicitudes ante el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial.

Las resoluciones, requerimientos y demás actos del Instituto se notificarán una vez publicada la solicitud a través de la Gaceta de la Propiedad Industrial, previa a esta publicación las notificaciones se realizarán por correo certificado con acuse de recibo al domicilio que hubieren señalado los solicitantes para tal efecto.

Información del trámite.

Trámite al que corresponde la forma. Solicitud de patente nacional, Solicitud de registro de modelo de utilidad nacional, Solicitud de registro de diseño industrial, Número de Registro Federal de Trámites y Servicios: IMPI-03-003 (A a B), IMPI-03-002 (A a B), IMPI-03-003 (A a B).

Procedimiento jurídico-administrativo.

Ley de la Propiedad Industrial.

Reglamento de la Ley de la Propiedad Industrial.

Acuerdo que establece las reglas para la presentación de solicitudes ante el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial.

Acuerdo por el que se da a conocer la lista de instituciones receptoras por el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial para el depósito de material biológico.

Acuerdo por el que se establecen los plazos de respuesta a través de trámites ante el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial.

Acuerdo por el que se establecen los términos en materia de servicios electrónicos del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial, en los trámites que se indican.

Tiempo de respuesta.

El plazo máximo de primer respuesta es de 3 meses. No aplica la positiva ni la negativa total.

Quejas y denuncias.

Órgano receptor de Control en el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial.

55-56-14-04-12 o 13 (Directa).

55-56-14-04-03 (Comunicado), extensiones 31281 y 11497. Correo electrónico: quejas@impi.gob.mx

Comité de Atención de Denuncias Ciudadanas.

En la Ciudad de México y áreas metropolitanas: 55 2000 2020.

Del interior de la República (sin costo): 800-112-8-700.

Sistema Integral de Denuncias Ciudadanas: <https://indice.dndi.gob.mx>

Contacto.

Avenida 150, Puesto Santa María Tepepan, Xochimilco, C.P. 16020, Ciudad de México.

Teléfono: 55-53-14-07-00 en la Ciudad de México y Área Metropolitana, del interior de la República sin costo para el usuario 800-570-59-93, extensiones 10096, 10030 y 10026.

Correo electrónico: dpd@impi.gob.mx



Instrucciones de llenado

Esta forma oficial es de distribución gratuita, se autoriza su libre reproducción, siempre que se agoten al formato oficial y a sus características de impresión.

La solicitud debe llenarse en idioma español, por cualquier medio legible, respetando el mismo modo de llenado de inicio a fin, sin tachaduras ni enmendaduras.

La solicitud debe ser presentada por duplicado, impresa a doble cara (anverso y reverso) en una hoja de papel blanco, tamaño folio, conforme al número de páginas que la integran y firmada autógrafamente en ambos ejemplares.

Fecha y Fecha de recepción. Para uso exclusivo del IMPI.

Datos generales de la solicitud. En el formato de solicitud señale en el círculo correspondiente el tipo de solicitud que desea presentar: solicitud de Patente de Invención, de Registro de Modelo de Utilidad o de Registro de Diseño Industrial (deberá señalar si se trata de un Modelo Industrial o un Diseño Industrial).

Datos generales de la solicitud. En el rubro PCT deberá indicar, cuando corresponda:

Datos generales del o de los solicitantes. Anote en el recuadro correspondiente los datos completos del (s) persona (s) física (s) o moral (s) que actúa (n) solicitante (s) en la Patente de Invención, Registro de Modelo de Utilidad o Registro de Diseño Industrial.

En el rubro Correo Electrónico, anote en este recuadro una dirección de correo electrónico, si desea que el Instituto envíe a éste, los avisos de las notificaciones efectuadas en la Gaceta de la Propiedad Industrial respecto del presente trámite, como en cuenta que el artículo 143 de la Ley de la Propiedad Industrial establece que las notificaciones se realicen a través de la Gaceta y estas surtirán efectos en la fecha que en la propia Gaceta lo indique o, en su defecto, al día hábil siguiente al que se ponga en circulación.

En el campo CURP (Clave Única de Registro de Población), puede registrarse únicamente si se trata de una persona física nacional.

En caso de que los solicitantes sean 2 o más personas físicas morales, marque el recuadro Controla en anexo y rellene la Hoja adicional complementaria "Datos generales del o de los solicitantes" / "Datos generales del o de los inventores o diseñadores o creadores", tantas veces sea necesario.

En el rubro Personas morales, el RFC (Registro Federal de Contribuyentes) puede registrarse únicamente si se trata de una persona moral nacional.

Domicilio del o de los solicitantes. Anote en el recuadro correspondiente los datos completos del domicilio del solicitante; el campo Calle es opcional.

Datos generales del o de los inventores o diseñadores. Anote en el recuadro correspondiente los datos completos del o los inventores o diseñadores (estos siempre deberán ser personas físicas).

En caso de que los inventores o diseñadores sean 2 o más personas físicas, marque el recuadro Controla en anexo y rellene la Hoja adicional complementaria "Datos generales del o de los solicitantes" / "Datos generales del o de los inventores o diseñadores o creadores", tantas veces sea necesario. Tratándose de solicitudes de Registro de Diseño Industrial se deberá hacer referencia a diseñadores.

Domicilio del o de los inventores o diseñadores. Anote en el recuadro correspondiente los datos completos del domicilio del o de los inventores o diseñadores. El campo Calle es opcional.

Datos generales del o de los apoderados. Anote en el recuadro correspondiente los datos completos del o de los apoderados.

En caso de que los apoderados sean 2 o más personas físicas, marque el recuadro Controla en anexo y rellene la Hoja adicional complementaria "Datos generales del o de los apoderados" / "Autorizaciones para oír y recibir notificaciones", tantas veces sea necesario. El correo electrónico que señale será al que se enviarán los avisos de las notificaciones efectuadas en la Gaceta de la Propiedad Industrial respecto del presente trámite, en caso de no registrarse la ciudad el aviso se enviará al señalado en los "datos generales del o de los solicitantes (s)".

Domicilio para oír y recibir notificaciones. Recuerde que, conforme al Reglamento de la Ley de la Propiedad Industrial, este domicilio debe ubicarse dentro del territorio nacional. Anote en el recuadro correspondiente los datos completos del domicilio para oír y recibir notificaciones, conforme a las instrucciones para el domicilio residentes en esta forma.

Datos generales de los autorizados para oír y recibir notificaciones. Anote en el recuadro correspondiente los datos completos de los autorizados.

Datos de la solicitud. Proporcione la información necesaria.

Denominación o título de la invención, Modelo de Utilidad o Diseño Industrial. La denominación o título debe ser connotativa de la invención o diseño.

Fecha de divulgación previa. Si la invención fue divulgada dentro de los doce meses previos a la fecha de presentación de la solicitud, indique la fecha de divulgación y anexe la información complementaria que rectora el Reglamento de la Ley de la Propiedad Industrial.

Divisional de la solicitud. En una solicitud que sea divisional de una solicitud previamente presentada, deberá proporcionar el número de expediente, la figura jurídica y la fecha de presentación de dicha solicitud. En caso de que la solicitud divisional sea 2 o más deberá señalar los datos del punto "Divisional de la solicitud" en escrito libre anexo.

Prioridad reclamada. El derecho de reclamar la prioridad sólo tiene lugar si la presente solicitud ha sido previamente presentada en algún país miembro del Convenio de París para la Protección de la Propiedad Industrial, en su caso, deberá proporcionar los siguientes datos: (Indicando si se presenta por primera vez la solicitud, fecha y número de depósito de la solicitud en dicho país). En caso de que sea reclamada 2 o más prioridades, deberá señalar los datos del punto "Prioridad o Prioridades reclamadas" en escrito libre anexo.

Nombre y firma del solicitante o su apoderado. Anote el nombre completo de la persona que firma la solicitud, en caso de que se trate de una persona moral, indique el nombre de la persona física que está actuando en su representación y firme la solicitud. Si el poder debe otorgarse de forma conjunta por varios apoderados, indique los nombres de todos ellos e incluya su firma.



MÉXICO
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

CONAMER

IMPI

Contacto:

Avenida 650, Pabellón Santa María Tereza, Xochimilco, CP 14020 Ciudad de México.

Teléfono: 55-53-34-67-00 en la Ciudad de México y área metropolitana, del interior de la República en

este país el número 800-070-00-00, extensiões 2090, 2091 y 2092.

Correo electrónico: imp@impi.gob.mx

Creatividad para el Bienestar

Página 4 de 4

Hoja adicional complementaria "Datos generales del o de los solicitantes"/
"Datos generales del o de los inventores o diseñadores o creadores"
(Use esta hoja en caso de que la solicitud sea presentada por dos o más personas físicas o morales)

Datos generales del solicitante o inventor o diseñador o creador

☐ Datos generales del solicitante

☒ Datos generales del inventor o diseñador o creador

Personas físicas

CURP (obligatorio): ROV1930209HPLMCS07
Nombre(s): JESÚS JAIME
Primer apellido: ROMERO
Segundo apellido: VACA
Nacionalidad: MEXICANA
Teléfono (toda, número, extensión): 222295500

Personas morales

RFC (obligatorio):
Denominación o razón social:

Nacionalidad:
Teléfono (toda, número, extensión):

Domicilio del solicitante o inventor o diseñador o creador

Código postal: 72570
Calle: INSTITUTO DE FISIOLÓGIA, CIUDAD UNIVERSITARIA
(Puede ser: Av. Universidad y Blvd. de la Salud, Av. de la Salud y Blvd. de la Salud)
Número exterior: S/N
Número interior:
Colonia: SAN MANUEL
(Puede ser: Av. Universidad y Blvd. de la Salud, Av. de la Salud y Blvd. de la Salud)
Municipio o demarcación territorial: PUEBLA
Localidad: PUEBLA
Entidad Federativa: PUEBLA
Entre calles (opcional):
País: MÉXICO
Calle posterior (opcional):

Datos generales del solicitante o inventor o diseñador o creador

☐ Datos generales del solicitante

☐ Datos generales del inventor o diseñador o creador

Personas físicas

CURP (obligatorio):
Nombre(s):
Primer apellido:
Segundo apellido:
Nacionalidad:
Teléfono (toda, número, extensión):

Personas morales

RFC (obligatorio):
Denominación o razón social:

Nacionalidad:
Teléfono (toda, número, extensión):

Domicilio del solicitante o inventor o diseñador o creador

Código postal:
Calle:
(Puede ser: Av. Universidad y Blvd. de la Salud, Av. de la Salud y Blvd. de la Salud)
Número exterior:
Número interior:
Colonia:
(Puede ser: Av. Universidad y Blvd. de la Salud, Av. de la Salud y Blvd. de la Salud)
Municipio o demarcación territorial:
Localidad:
Entidad Federativa:
Entre calles (opcional):
País:
Calle posterior (opcional):

Instrucciones de llenado

Esta forma oficial es de distribución gratuita, se autoriza su libre reproducción, siempre que se ajusten al formato oficial y a sus características de impresión.

La información debe llenarse en idioma español, por cualquier medio legible, manteniendo el mismo medio de llenado de inicio a fin, sin tachaduras ni enmendaduras.

La hoja adicional complementaria debe ser permitida por WordPerfect, o sistema análogo (en CorelDraw y Excel) en una hoja de papel letter, tamaño A4.

Datos generales del solicitante o inventor o diseñador o creador: En la hoja adicional señale en el círculo correspondiente el tipo de datos generales que desea presentar: datos generales del solicitante o datos generales del inventor o diseñador o creador.

Datos generales del solicitante: Anote en el recuadro correspondiente los datos completos de la persona física o moral que será solicitante de la Patente de invención, Registro de Modelo de Utilidad, Registro de Diseño Industrial o Registro de Esquema de Circuito Integrado.

En el campo CLIRP (Clave Única de Registro de Pertenencia), puede registrarla únicamente si se trata de una persona física nacional.

En el rubro Personas morales, el RFC (Registro Federal de Contribuyentes) puede registrarla únicamente si se trata de una persona moral nacional.

Domicilio del solicitante: Anote en el recuadro correspondiente los datos completos del domicilio del solicitante. El campo Entre calles es opcional.

Datos generales del inventor o diseñador o creador: Anote en el recuadro correspondiente los datos completos del inventor o diseñador o creador (este siempre deberá ser persona física).

Domicilio del inventor o diseñador o creador: Anote en el recuadro correspondiente los datos completos del domicilio del inventor o diseñador o creador. El campo Entre calles es opcional. Podrá registrar la hoja adicional complementaria tantas veces sea necesaria.



Hoja adicional complementaria "Datos generales del o de los apoderados" /
"Autorizados para oír y recibir notificaciones"

Únicamente para trámites ante la Dirección Divisional de Patentes
(Use esta hoja para adicionar apoderados y / o autorizados para oír y recibir notificaciones)

Datos generales del apoderado o autorizado para oír y recibir notificaciones	
☐ Datos generales del apoderado ☒ Datos generales del autorizado para oír y recibir notificaciones	
CURP (obligatorio):	Registro General de Poderes (opcional):
Nombre(s): Gabriela	RFC (obligatorio):
Primer apellido: Sánchez	Teléfono (línea, número, extensión):
Segundo apellido: Esagua	

Datos generales del apoderado o autorizado para oír y recibir notificaciones	
☐ Datos generales del apoderado ☐ Datos generales del autorizado para oír y recibir notificaciones	
CURP (obligatorio):	Registro General de Poderes (opcional):
Nombre(s):	RFC (obligatorio):
Primer apellido:	Teléfono (línea, número, extensión):
Segundo apellido:	

Datos generales del apoderado o autorizado para oír y recibir notificaciones	
☐ Datos generales del apoderado ☐ Datos generales del autorizado para oír y recibir notificaciones	
CURP (obligatorio):	Registro General de Poderes (opcional):
Nombre(s):	RFC (obligatorio):
Primer apellido:	Teléfono (línea, número, extensión):
Segundo apellido:	

Datos generales del apoderado o autorizado para oír y recibir notificaciones	
☐ Datos generales del apoderado ☐ Datos generales del autorizado para oír y recibir notificaciones	
CURP (obligatorio):	Registro General de Poderes (opcional):
Nombre(s):	RFC (obligatorio):
Primer apellido:	Teléfono (línea, número, extensión):
Segundo apellido:	

Datos generales del apoderado o autorizado para oír y recibir notificaciones	
☐ Datos generales del apoderado ☐ Datos generales del autorizado para oír y recibir notificaciones	
CURP (obligatorio):	Registro General de Poderes (opcional):
Nombre(s):	RFC (obligatorio):
Primer apellido:	Teléfono (línea, número, extensión):
Segundo apellido:	

Instrucciones de llenado

Esta forma oficial es de distribución gratuita, se autoriza su libre reproducción, siempre que se ajusten al formato oficial y a sus características de impresión.

La información debe llenarse en idioma español, por cualquier medio legible, manteniendo el mismo medio de llenado de inicio a fin, sin tachaduras ni enmendaduras.

La hoja adicional complementaria debe ser presentada por duplicado, impresa a doble cara (anverso y reverso) en una hoja de papel blanco, tamaño oficio.

Datos generales del apoderado o autorizado para oír y recibir notificaciones. En la hoja adicional señale en el círculo correspondiente el tipo de datos generales que desea presentar: datos generales del apoderado o autorizado para oír y recibir notificaciones.

Datos generales del apoderado. Si marcó en el círculo correspondiente "Datos generales del apoderado", deberá requerir todos los datos generales de dicha persona a excepción de los opcionales.

Datos generales del autorizado para oír y recibir notificaciones. Si marcó en el círculo correspondiente "Datos generales del autorizado para oír y recibir notificaciones", deberá requerir los datos de Nombre(s), Primer apellido, Segundo apellido y CURP (obligado).

En el campo CURP (Clave Única de Registro de Población), puede registrarla únicamente si se trata de una persona física nacional.

En el rubro RFC (Registro Federal de Contribuyentes) puede registrarla únicamente si se trata de una persona física nacional. Este campo es opcional.

Podrá registrar la hoja adicional complementaria tantas veces sea necesaria.



MÉXICO
PRESIDENCIA DE LA REPÚBLICA

CONAMER



Contacto:

Avenida 4 850, Puerto Santa María Tlalpam, Ximiltepec, C.P. 24300, Ciudad de México

Teléfono: 55-53-34-62-40 en la Ciudad de México y líneas telefónicas del interior de la República de

costa para el usuario 800-5-20-55-50, exteniones 10018, 10010 y 10026

Código de barras: 630374

Creatividad para el Bienestar

Página 2 de 2

Bibliografía

- Amorim, M., Bonagamba, L., Souza, G., Moraes, D., & Machado, B. (2017). Changes in the inspiratory pattern contribute to modulate the sympathetic activity in sino-aortic denervated rats. *Experimental Physiology* (102), 1100-1117.
- Aoyagi, T. (2003). Pulse oximetry: its invention, theory, and future. *Journal of Anesthesiology*, 17 (4) 259-266.
- Barker, S. (2002). Principles of pulse oximetry technology. Obtenido de Oximetry.org: <http://www.oximetry.org/pulseox/principles.htm>
- Baum, D., Halter, J., Taborsky, G., & Portre Jr., D. (1985). Pentobarbital Effects on Plasma Catecholamines: Temperature, Heart Rate, and Blood Pressure. *American Journal of Physiology*, 248 (1 Pt 1): E95-100.
- Bednsarski, R., Grimm, K., Harvey, R., Lukasik, V., Penn, W., Sargent, B., & Spelts, K. (2011). AAHA Anesthesia Guidelines for Dogs and Cats. *J Am Anim Hosp Assoc*, 377-385.
- Bernardi, L., Porta, C., Spicuzza, L., Jerzy, B., Spadacini, G., & Frey, A. (2001). Slow breathing increases arterial baroflex sensitivity in patients with chronic heart failure. *Circulation*, 105: 143-145.
- Boron, W. F., & Boulpaep, E. (2012). *Medical Physiology*. Philadelphia: Elsevier, 353-354. 4° Ed.
- Boudreau-Conover, M. (2003). *Understanding Electrocardiography*. St. Louis Missouri: Mosby An Affiliate of Elsevier Science. 420-424.
- Bowers, E., & Murray, A. (2004). Interacion between cardiac beat-to-beat interval changes and systolic blood pressure changes. *Clinical Autonomic Research* (14), 92-98.
- Brown, D., Brown, L., Patwardhan, A., & Randall, D. (1994). Sympathetic activity and blood pressure are tightly coupled at 0.4Hz in conscious rats. *American Journal of Physiology*, 267 (5): 1378-1384.
- Brown, S., Atkins, C., Bagley, R., Carr, A., Cowgill, L., Madison, M., . . . Stepien, R. (2007). Guidelines for the the Identification, Evaluation, and Management of Systemic Hypertension in Dogs and Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 542-558.

- Brown, T., Beightol, L., Koh, J., & Eckberg, D. (1993). Important influence of respiration on human R-R interval power spectra is largely ignored. *Journal of Applied Physiology*, 75 (5): 2310-2317.
- Canazza, A., Minati, L., Boffano, C., Parati, E., & Binks, S. (2014). Experimental Models of Brain Ischemia: A Review of Techniques, Magnetic Resonance Imaging, and Investigational Cell-Based Therapies. *Frontiers in Neurology*, (19) 5-19.
- Carney, N., Totten, A., O'Reilly, C., Ullman, J., Hawryluk, G., Bell, M., . . . Ghajar, J. (2016). *Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury*, Fourth Edition. *Neurosurgery*, 9-14.
- Cevese, A., Grasso, R., Poltronieri, R., & Schena, F. (1995). Vascular resistance and arterial pressure low-frequency oscillations in the anesthetized dog. *American Journal of Physiology*, 268(1 Pt 2): H7-16.
- Cevese, A., Gulli, G., Polati, E., & Grasso, R. (2001). Baroreflex and oscillation of heart period at 0.1 Hz studied by alpha-blockade and cross-spectral analysis in healthy humans. *Journal of Physiology*, 531(Pt 1): 235-244.
- Coates, D. (2003). The angiotensin converting enzyme. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 35(6): 769-773.
- Cohen, L., Keynes, R., & Landowne, D. (1972). Changes in light scattering that accompany the action potential in squid giant axons: potential-dependent components. *J. Physiol.*, 224(3): 701-725.
- Constanzo, L. (2007). *Physiology*. Hagerstown: Lippincott, Williams & Wilkins. 210-212
- Côté, E., MacDonald, K. A., Meurs, K. M., & Sleeper, M. M. (2011). *Feline cardiology*. Oxford: John Wiley & Sons.
- Cox, A., Varma, A., & Banik, N. (2015). Recent advances in the pharmacologic treatment of spinal cord injury. *Metabolic Brain Disease*, 30: 473-482.
- Danilov, S., Jaspard, E., Chrakova, T., Towbin, H., Savoie, F., Wei, L., & Alhencgas, F. (1994). Structure-function analysis of angiotensin I converting enzyme using monoclonal-antibodies-selective-inhibition of the amino-terminal active-site. *Journal of Biological Chemistry*, 269(43): 26806-26814.

- de Haan, P., Kalkman, C., & Jacobs, M. (2001). Pharmacologic Neuroprotection in Experimental Spinal Cord Ischemia: A Systematic Review. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*, 13(1): 3-12.
- Dick, T., Mims, J., Hsieh, Y., Morris, K., & Wehrwein, E. (2015). Increased Cardio-Respiratory Coupling Evoked by Slow Deep. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 0: 99-111.
- Donnan, G., Fisher, M., Macleod, M., & Davis, S. (2008). Stroke. *Lancet*, 1612-1623.
- Duan, L., Zhang, Y., & Zhu, C. (2012). Quantitative comparison of resting-state functional connectivity derived from fNIRS and fMRI: a simultaneous recording study. *Neuroimage*, (4) 2008-2018.
- Ead, H., Green, J., & Neil, E. (1952). A comparison of the effects of pulsatile and non-pulsatile blood flow through the carotid sinus on the reflexogenic activity of the sinus baroreceptors in the cat. *Journal of Physiology*, 118 (4) 509-519.
- Eckberg, D., & Wallin, B. (1987). Isometric exercise modifies autonomic baroreflex responses in humans. *Journal of Applied Physiology*, 63 (6): 2325-2330.
- Eckberg, D., Cooke, W., Diedrich, A., Biaggioni, I., J.C., B. J., Pawelczyk, J., Ertl AC, Cox JF, Kuusela TA, Tahvanainen KU, Mano T, Iwase S, Baisch FJ, Levine BD, Adams-Huet B, Robertson D, Blomqvist CG. (2016). Respiratory modulation of human autonomic function on Earth. *Journal of Physiology*, 1; 594 (19): 5611-5627.
- Eid, M., Gollwitzer, M., & Schmitt, M. (2015). Statistics and research methods. Psychologie Verlagsunion: Berlin.
- Elghozi, J., Laude, D., & Girard, A. (1991). Effects of respiration on blood pressure and heart rate variability in humans. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 18: 735-742.
- Evans, J. (1996). *Straightforward Statistics for the Behavioral Sciences*. Pacific Grove, California.: Brooks/Cole Publishing.
- Fyhirsquist, F., & Saijonmaa, O. (2008). Renin-angiotensin system revisited. *Journal of Internal Medicine*, 264: 224-236.
- Ghai, C. (2012). *A Textbook of Practical Physiology*. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers. 8a Edición. 349-352.

- Gorelik, N., & Tampieri, D. (2014). Cocaine-induced vasospasm causing spinal cord transient ischemia. *Neuroradiology Journal*, 25 (3): 364-367.
- Hales, S. (1733). *Statical Essays: Containing Haemastatics; or, An Account of some Hydraulick and Hydrostatical Experiments made on the Blood and Blood-Vessels of Animals*. London: W. Innys, R. Manby and T. Woodward.
- Hall, J. (2016). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. Philadelphia: Elsevier.
- Halliburton, W. (1919). Traube waves and Mayer waves. *Journal of Experimental Physiology*, 12: 227-229.
- Hanamoto, H., Niwa, H., Sugimura, M., & Yoshinari, M. (2012). Autonomic and cardiovascular effects of pentobarbital anesthesia during trigeminal stimulation in cats. *International Journal of Oral Science*, 4: 24-29.
- Heesch, C. (1999). Reflexes that control cardiovascular function. *The American Journal of Physiology*, 277(6 Pt 2): 234-243.
- Hofer, C., & Canesson, M. (2011). Monitoring fluid responsiveness. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica*, 49 (2): 59-65.
- Huang, F., Yuan, P., Lin, K., Chang, H., & Tsai, C. (2011). Analysis of reflectance photoplethysmograph sensors. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 5 (11): 1266-1269.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (30 de 10 de 2017). Estadísticas a propósito del día de muertos. Datos nacionales. Obtenido de Instituto Nacional de Estadística y Geografía: http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2017/muertos2017_Nal.pdf
- Iseli, E., Cavigelli, A., Dietz, V., & Curt, A. (1999). Prognosis and recovery in ischaemic and traumatic spinal cord injury: clinical and electrophysiological evaluation. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 67(5): 567-571.
- Janssen, B., Malpas, S., Burke, S., & Head, G. (1997). Frequency-dependent modulation of renal blood flow by renal nerve activity in conscious rabbits. *American Journal of Physiology*, ;273(2 Pt 2): 597-608.
- Joyner, M., & Casey, D. (2015). Regulation of increased blood flow (hyperemia) to muscles during exercise: a hierarchy of competing physiological needs. *Physiological Reviews* 95(2): 549-601.

- Julien, C. (2006). The enigma of Mayer Waves: Facts and models. *Cardiovascular Research*, 1;70(1): 12-21.
- Kaminski, R., Meyer, G., & Winter, D. (1970). Sympathetic unit activity associated with Mayer waves in the spinal dog. *American Journal of Physiology* 219(6): 1768-1771.
- Kamtchum, T., Pignel, R., Pollak, P., Lovblad, K., Kleinschmidt, A., & Vargas, M. (2014). Neuroimaging of diving-related decompression illness: current knowledge and perspectives. *American Journal of Neuroradiology*, 35(11):2039-44.
- Karemaker, J., & DeBoer, R. (2017). Vagal baroreflex latency in circulatory control. *Journal of Physiology*, 595(6): 2197–2198.
- Kasten-Jolly, J., & Taketa, F. (1984). Biosynthesis of cat hemoglobins: Translation of poly(A)-RNA from animals of various HbA/HbB phenotypes. *Biochemical Genetics*, 22(9-10):901-11.
- Kennedy, S. (20 de abril de 2015). An introduction to pulse oximeters: equations and theory. Recuperado el 09 de noviembre de 2019, de Institutionen för medicinsk teknik: <http://www.imt.liu.se/FoUtb/kurser/oxikurs/restricted/pulseoximetersequationsandtheory-stephenkennedy.pdf>
- Kjell, F., Bjelke, B., Andbjer, B., Grahn, H., Rimondini, R., & Agnati, L. (1997). Endothelin-1 induced lesions of the frontoparietal cortex of the rat. A possible model of focal cortical ischemia. *Regeneration and Transplantation*, 8 (11): 2623-9.
- Kramár, E., Harding, J., & Wright, J. (1997). Angiotensin II- and IV-induced changes in cerebral blood flow: Roles of AT1 AT2, and AT4 receptor subtypes. *Regulatory Peptides*, 68 (2): 131-8.
- Lang-Lazdunski, L., Matsushita, K., Hirt, L., Waeber, C., Vonsattel, J., & Moskowitz, M. (2000). Spinal Cord Ischemia - Development of a Model in the Mouse. *Stroke*, 31 (1): 208-13.
- Levy, M., & Pappano, A. (2007). *Cardiovascular Physiology*. Mosby Elsevier.
- Lewis, O. (1994). Stephen Hales and the measurement of blood pressure. *Journal of Human Hypertension*, 8 (12): 865-71.

- Linberg, R., Conover, C., & Shum, K. (2009). Hemoglobin based oxygen carriers: how much methemoglobin is too much? *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 26 (2): 133-48.
- Lomelí-Mejía, P., Alanis-Carbajal, J., Cruz-Orea, A., & Jiménez-Pérez, J. (2009). Optical absorption coefficients of biological tissues obtained by photoacoustic spectroscopy. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*, 30(1):13-17.
- Macintire, D., Drobatz, K., Haskins, S., & Saxon, W. (2012). *Manual of small animal emergency and critical care medicine*. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Macrae, I. (2011). Preclinical Stroke Research--Advantages and Disadvantages of the Most Common Rodent Models of Focal Ischaemia. *British Journal of Pharmacology*, 164(4): 1062-1078.
- Manjarrez, E., & J.J., R.-V. (2019). México Patente nº MX/E/2019/086482.
- Manjarrez-López, E., Meza-Andrade, R., Huidobro-González, N., Martínez-Castillo, J., Mabil-Espinosa, P., Herrera-May, A., . . . Peña-Ortega, J. (2017). México Patente nº MX/E/2017/087473.
- Márquez, J., Granados, A., & Castillo, M. (2012). MRI of cervical spinal cord infarction in a patient with sickle cell disease. *Clinical Imaging*, 36 (5): 595-598.
- Martínez Ríos, M. (2014). Introducción. En A. N. Medicina, *Infarto agudo de miocardio - Documento de postura* (págs. 1-3). México: Academia Nacional de Medicina.
- Messerli, F., Nowaczynski, W., & Honda, M. (1977). Effects of angiotensin II on steroid metabolism and hepatic blood flow in man. *Circulation Research*, 122(6), 204-207.
- Meyer, F., Anderson, R., Sundt, T., & Yaksh, T. (1986). Intracellular Brain pH, Indicator Tissue Perfusion, Electroencephalography, and Histology in Severe and Moderate Focal Cortical Ischemia in the Rabbit. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 6 (1): 71-78.
- Meza, R., Huidobro, N., Moreno-Castillo, M., Mendez-Fernandez, A., Flores-Hernandez, J., Flores, A., & Manjarrez, E. (2019). Resetting the Respiratory Rhythm with a Spinal Central Pattern Generator. *eNeuro*, 6(2), ENEURO.0116-19.2019.
- Mischel, N., Subramanian, M., Dombrowski, M., LLewellyn-Smith, I., & Mueller, P. (2015). (In)activity-related neuroplasticity in brainstem control of sympathetic

outflow: unraveling underlying molecular, cellular, and anatomical mechanisms. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 309 (2): 235-243.

Montgomery, H., Humphries, S., & Leung, P. (2003). Renin-angiotensin systems: the new frontier. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 35:867-880.

Moraes, D., Bonagamba, L., da Silva, M., Paton, J., & Machado, B. (2017). Role of ventral medullary catecholaminergic neurons for respiratory modulation of sympathetic outflow in rats. *Scientific Reports* 7, 16883 (2017).

Moreno-Castillo, M., Meza, R., Romero-Vaca, J., Huidobro, N., Méndez-Fernández, A., Martínez-Castillo, J., . . . Manjarrez, E. (2020). The Hemodynamic Mass Action of a Central Pattern Generator. *Frontiers in Neuroscience*, 14:38.

Mueller, P. (2007). Exercise training and sympathetic nervous system activity: evidence for physical activity dependent neural plasticity. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* (34), 377-384.

Mukaka, M. (2012). A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*, 24 (3): 69-71.

Munson, B., Young, D., Okiishi, T., & Huebsch, W. (2009). *Fundamental of Fluid Mechanics*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

Nardone, R., Pikija, S., Mutzenbach, J., Seidl, M., Leis, S., Trinkka, E., & Sellner, J. (2016). Current and emerging treatment options for spinal cord ischemia. *Drug Discovery Today*, 21(10): 1632-1641.

Nedeltchev, K., Loher, T., Stepper, F., Arnold, M., Schroth, G., Mattle, H., & Sturzenegger, M. (2004). Long-Term Outcome of Acute Spinal Cord Ischemia Syndrome. *Stroke*, 35 (2): 560-565.

Nitzan, M., Babchenko, A., Khanokh, B., & Landau, D. (1998). The variability of the photoplethsmographic signal- a potential method for the evaluation of the autonomic nervous system. *Physiological Measurement*, 19(1): 93-102.

Novy, J., Caruzzo, A., Maeder, P., & Bogousslavsky, J. (2006). Spinal cord ischemia: clinical and imaging patterns, pathogenesis, and outcomes in 27 patients. *Archives of Neurology*, 63 (8): 1113-1120.

- Pagani, M., Lucini, D., Rimoldi, O., Furlan, R., Piazza, S., Porta, A., & Malliani, A. (1996). Low and High Frequency Components of Blood Pressure Variability. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 783: 10-23.
- Pakozdy, A., Angerer, C., Klang, A., König, E., & Probst, A. (2014). Gyration of the Feline Brain: Localization, Terminology and Variability. *Anatomia Histologia Embryologia*, 44 (6): 422-7.
- Palmer, L., & Frindt, G. (2000). Aldosterone and potassium secretion by the cortical collecting duct. *Kidney International*, 57 (4): 1324-1328.
- Parati, G., Ochoa, J., Lombardi, C., & Bilo, G. (2013). Assessment and management of blood-pressure variability. *Nature Reviews Cardiology*, 143-155.
- Pearn, M., Niesman, I., Egawa, J., Sawada, A., Almenar-Queralt, A., Shah, S., . . . Head, B. (2017). Pathophysiology Associated with Traumatic Brain Injury: Current Treatments and Potential Novel Therapeutics. *Celullar and Molecular Neurobiology*, 10 (3): 571-585.
- Phillips, J. P., Kyriacou, P. A., George, K. J., Priestley, J. V., & Langford, R. M. (2006). An optical fiber photoplethysmographic system for central nervous system tissue. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, 2006: 803–806.
- Polosa, C. (1984). Rhythms in the activity of the autonomic nervous system: their role in the generation of systemic arterial pressure waves. En K. H. Miyakawa K, *Mechanisms of Blood Pressure Waves* (págs. 27-41). Tokyo: Japanese Science Society Press.
- Quaresima, V., Bisconti, S., & Ferrari, M. (2012). A brief review on the use of functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) for language imaging studies in human newborns and adults. *Brain Language*, 121(2): 79-89.
- Raphan, T., Cohen, B., Xiang, Y., & Yakushin, S. (2016). A Model of Blood Pressure, Heart Rate, and Vaso-Vagal Responses Produced by Vestibulo-Sympathetic Activation. *Frontiers in Neuroscience*, 2016 Mar 31;10:96.
- Rieger, S., Klee, S., & Baumgarten, D. (2018). Experimental characterization and correlation of Mayer waves in retinal vessel diameter and arterial blood pressure. *Frontiers in Physiology*, 2018 Jul 13;9:892.
- Romero Vaca, J. (2017). Correlatos funcionales entre las ondas de Mayer y las señales ópticas intrínsecas de la médula espinal del gato descerebrado (Tesis de Licenciatura). Puebla, México: Facultad de Ciencias Biológicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

- Sánchez Arjona, M., González Pérez, P., & González Marcos, J. (2007). Patología vascular medular isquémica, hemorrágica y malformaciones vasculares. *Medicine: Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 4674-4681.
- Sandell, J., & Zhu, T. (2011). A review of in-vivo optical properties of human tissues and its impact on PDT. *Journal of Biophotonics*, 4 (11-12): 773-787.
- Saul, J., Rea, R., Eckberg, D., Berger, R., & Cohen, R. (1990). Heart rate and muscle sympathetic nerve variability during reflex changes of autonomic activity. *American Journal of Physiology*, 258 (3 Pt 2): H713-H721.
- Scarr, G. (2016). Fascial hierarchies and the relevance of crossed-helical arrangements of collagen to changes in shape. Part II: the proposed effect of blood pressure (Traube-Hering-Mayer) waves on the fascia. *Journal of Bodywork and Movement Therapies*, 20 (3): 629-638.
- Schweitzer, A., Niogi, S., Whitlow, C., & Tsiouris, A. (2019). Traumatic Brain Injury: Imaging Patterns and Complications. *RadioGraphics* 39:6, 1571-1595.
- Serra Valdés, M., & Fabra Aquirre, G. (2013). Mielopatía isquémica: presentación de caso. *Revista cubana de neurología y neurocirugía*, 3 (2): 88-92.
- Sherrington, C. (1898). Descerebrate rigidity, and reflex coordination of movements. *The Journal of Physiology*, 22 (4): 319-32.
- Shin, W., Kang, S. K., Seong, S., Han, S., & Hwang, G. (2011). Link between heart rate and blood pressure Mayer wave during general anesthesia. *Clinical Autonomic Research*, 21 (5): 309-17.
- Solà i Carós, J. (2011). Continuous non-invasive blood pressure estimation. Doctoral Thesis. Zürich: Eidgenössische Technische Hochschule (ETH) Zürich.
- Sommer, C. (2017). Ischemic stroke: experimental models and reality. *Acta Neuropathologica*, 133(2): 245-261.
- Stanfield, C. (2013). The Nervous System: Autonomic and Motor Systems. En C. Stanfield, *Principles of Human Physiology* (págs. 304-306). Pearson: 2013.
- Steagall, P., Robertson, S., & Taylor, P. (2017). *Feline Anesthesia and Pain Management*. John Wiley & Sons, Inc.
- Steppan, J., Barodka, V., Berkowitz, D. E., & Nyhan, D. (2011). Vascular stiffness and increased pulse pressure in the aging cardiovascular system. *Cardiology research and practice*, 2011, 263585.

- Strohm, T., John, S., & Hussain, M. (2018). Cerebrospinal fluid drainage and blood pressure elevation to treat acute spinal cord infarct. *Surgical Neurology International*, 21-Sep-2018;9:195.
- Stromberg, D., & Fox, J. (1972). Pressure in the Pial Arterial Microcirculation of the Cat during Changes in Systemic Arterial Blood Pressure. *Circulation Research*, XXXI, 1972;31:229–239
- Sugita, N., Yoshizawa, M., Murakoshi, M., Ave, M., Homma, N., Yambe, T., & Nitta, S. (2010). Extraction of the Mayer wave component in blood pressure from the instantaneous phase difference between electrocardiograms and photoplethysmograms. *Artificial Life Robotics*, 15 (4): 522-525.
- Sun, L., & Schwarzenberger, J. (2010). Cardiac Physiology. En R. Miller, *Miller's Anesthesia* (págs. 393-410). Philadelphia: Elsevier.
- Sviridova, N., Zhao, T., Aihara, K., Nakamura, K., & Nakano, A. (2018). Photoplethysmogram at green light: Where does chaos arise from? *Chaos, Solitons & Fractals*, 116, 157-165.
- Szidon, J., Cherniack, N., & Fishman, A. (1969). Traube-Hering Waves in the Pulmonary Circulation of the Dog. *Science*, 164 (3875): 75-76.
- Tamura, T., & Maeda, Y. (2017). Photoplethysmogram. *Seamless Healthcare Monitoring*, 159-192.
- Tasker, L. (2013). Métodos de eutanasia para perros y gatos: comparaciones y recomendaciones. Londres: World Society for the Protection of Animals. Obtenido de <https://www.animalsheltering.org/sites/default/files/content/euthanasia-reference-manual.pdf>
- Texas Instruments. (2015). OPT101 Monolithic Photodiode and Single-Supply Transimpedance Amplifier. Obtenido de Texas Instruments: <http://www.ti.com/lit/ds/symlink/opt101.pdf>
- U.S. Department of Health & Human Services. (3 de mayo de 2018). Stroke. Obtenido de Center for Disease Control and Prevention: https://www.cdc.gov/stroke/types_of_stroke.htm
- Ulloa-Alday, J., Cantú-Ibarra, S., Melo-Sánchez, M., & Berino-Pardo, D. (2015). Síndrome de Wallenberg. *Medicina Interna de México*, 491-498.

- Vargas, M., Gariani, J., Sztajzel, R., Barnaure-Nachvar, I., Delattre, B., Lovblad, K., & Dietemann, J. (2015). Spinal Cord Ischemia: Practical Imaging Tips, Pearls, and Pitfalls. *American Journal of Neuroradiology*, 36 (5): 825-30.
- Vincis. (2015). Sensory-Evoked Intrinsic Imaging Signals in the Olfactory Bulb Are Independent of Neurovascular Coupling. *Cell Reports*, 12 (2): 313-25.
- Volkov, M., Margaryants, N., Potemkin, A., Volynsky, M., Gurov, I., Mamontov, O., & Kamshilin, A. (2017). Video capillaroscopy clarifies mechanism of the photoplethysmographic waveform appearance. *Scientific Reports*, 7, 13298 (2017).
- Wakefield, B., Busse, L., & Khanna, A. (2019). Angiotensin II in vasodilatory shock. *Critical Care Clinics*, 35 (2): 229-45.
- Wallbach, M., & Koziolok, M. (2018). Baroreceptors in the carotid and hypertension - systematic review and meta-analysis of the effects of baroreflex activation therapy on blood pressure. *Nephrology Dialysis and Transplants*, 33 (9): 1485-1493
- Weidauer, S., Nichtweiss, M., Lanfermann, H., & Zanella, F. (2002). Spinal cord infarction: MR imaging and clinical features in 16 cases. *Neuroradiology*, 44 (10): 851-7.
- Wienecke, J., Enríquez-Denton, M., Stecina, K., Kirkwood, P., & Hultborn, H. (2015). Modulation of spontaneous locomotor and respiratory drives to hindlimb motoneurons temporally related to sympathetic drives as revealed by Mayer waves. *Frontiers in Neural Circuits*, 9 (1): 1-18.
- Wishart, D., Feunang, Y., Guo, A., Lo, E., Marcu, A., Grant, J., . . . Knox, C. (2018). DrugBank 5.a: a major update to the DrugBank database for 2018. *Nucleic Acids Research*, 46 (D1): D1074-D1082.
- Wright, J., & Harding, J. (1997). Important roles for angiotensin III and IV in the brain renin-angiotensin system. *Brain Research Reviews*, 25 (1): 96-124.
- Yin, G., Yan, C., & Berk, B. (2003). Angiotensin II signaling pathways mediated by tyrosine kinases. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 33 (6): 780-783.
- Yugandhar, V., & Clark, M. (2013). Angiotensin III: A physiological relevant peptide of the renin angiotensin system. *Peptides*, 46: 26-32.

- Zhang, R., Iwasaki, K., Zuckerman, J., Behbahani, K., Crandall, C., & Levine, B. (2002). Mechanism of blood pressure and R-R variability: insights from ganglion blockade in humans. *The Journal of Physiology*, 543 (Pt 1): 337-348.
- Zheng, D., Giovannini, R., & Murray, A. (2012). Effect of respiration, talking and small body movements on blood pressure measurement. *Journal of Human Hypertension* (26), 458-462.