



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Caracterización de la respuesta de las aferentes vestibulares ante la estimulación eléctrica en la preparación del vestíbulo aislado en rata (Long Evans)

Tesis que para obtener el título de:

Bióloga

PRESENTA:

María Claudia Gómez Méndez

TUTOR:

Dra. María del Rosario Vega y Sáenz de Miera



Junio 2017

DEDICATORIA

A mi madre Dolores Gómez Méndez por su ejemplo y fortaleza de seguir adelante, gracias por brindarme tu apoyo para seguir creciendo.

Agradecimientos

En el presente trabajo participaron distintas personas opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, dando ánimo, acompañando en los momentos de crisis y en los momentos gratos.

En primer lugar quisiera agradecer al Dr. Enrique Soto Fguibar y a la Dra. María del Rosario Vega por permitirme trabajar en el Laboratorio de Neurofisiología Sensorial, además de darme la oportunidad y confianza para la elaboración de este proyecto de tesis, por su valiosa dirección, apoyo y tiempo para la conclusión del mismo.

Un agradecimiento especial a la Maestra Aida Ortega Cambranis por su apoyo incondicional, por sus enseñanzas, sus consejos, paciencia y ánimos que me brindó durante mi estancia en el laboratorio.

A todos los compañeros de trabajo por guiarme, ayudarme y sacarme de dudas cuando lo necesitaba, en especial Octavio, Ignacio, Audrey y Adriana, mis más sinceros agradecimientos.

ÍNDICE

| | |
|--|-----|
| RESUMEN | 3 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 4 |
| 1.1 Sistema vestibular | 4 |
| 1.1.1 Órganos otolíticos | 5 |
| 1.1.2 Canales semicirculares | 6 |
| 1.1.3 Células ciliadas | 7 |
| 1.1.4 Núcleos vestibulares | 9 |
| 1.2 Inervación | 9 |
| 1.3 Fisiología | 11 |
| 1.4 Neuronas aferentes vestibulares | 12 |
| 1.4.1 Propiedades de la descarga basal en las neuronas aferentes vestibulares | 13 |
| 1.5 Proceso funcional del sistema vestibular | 15 |
| 2. ANTECEDENTES | 16 |
| 2.1 Estimulación eléctrica | 16 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 18 |
| 4. HIPÓTESIS | 19 |
| 5. OBJETIVOS | 19 |
| 5.1 Objetivos Particulares | 19 |
| 6. MATERIAL Y MÉTODOS | 19 |
| 6.1 Animal de experimentación | 19 |
| 6.2 Obtención de la preparación | 20 |
| 6.3 Registro extracelular multiunitario | 21 |
| 6.4 Protocolo experimental | 22 |
| 7. RESULTADOS | 25 |
| 8. DISCUSIÓN | 33 |
| 9. CONCLUSIÓN | 377 |
| 10. BIBLIOGRAFÍA | 39 |

RESUMEN

El sistema vestibular integra señales de la dirección de la normal, rotaciones angulares, entradas visuales y propioceptivas para producir la sensación de equilibrio y ubicación en el espacio. Se han diseñado técnicas para estimular o simular una respuesta vestibular. La estimulación galvánica vestibular (EGV), surge de la modificación de otros métodos de estimulación con corriente continua, como la estimulación eléctrica transcraneal. La EGV consiste en aplicar corriente eléctrica mediante la colocación de dos electrodos fijos en cada región mastoidea. Los diferentes métodos de estimulación eléctrica vestibular pueden activar distintas áreas a nivel central y periférico, provocando diversas respuestas. Las variantes de la técnica de estimulación eléctrica no reportan específicamente la activación de una sola región vestibular. Para determinar a qué nivel la estimulación eléctrica activa el sistema vestibular en este trabajo se usó la preparación del vestíbulo aislado de la rata lo que permite estudiar las respuestas a la EGV a nivel periférico. Se registró la actividad eléctrica de las fibras del nervio vestibular y se comparó la frecuencia de descarga ante la estimulación eléctrica y en condiciones control y se obtuvieron los valores de inyección de corriente a los que responde de forma significativa. Para esto se aplicaron dos protocolos de estimulación (polaridad normal e invertida). El rango al que respondió el nervio aferente vestibular fue de -90 a 90 μA . Se obtuvieron dos tipos de respuesta en los protocolos utilizados. En el protocolo con polaridad normal, donde la corriente fue anódica se presenta un pico de respuesta excitatorio que decae exponencialmente reponiéndose la actividad, mientras que en el protocolo con polaridad invertida, el pico de respuesta fue inhibitorio mejorando la respuesta en estado estable. Los resultados obtenidos demuestran que la preparación del vestíbulo aislado de la rata es idónea para estudiar los mecanismos de acción a nivel celular de la EGV. Nuestros resultados demuestran que la EGV produce respuestas similares a las de la estimulación mecánica y que la estimulación anódica o catódica no produce efectos exactamente invertidos lo que explicaría algunas de las respuestas no asimétricas que se observan en sujetos con EGV. Pueden verse como una respuesta más específica del nervio, ya que se aísla de otros sistemas moduladores como el sistema nervioso central, y de factores externos que pueden influir en toda la respuesta del nervio vestibular aferente en rata.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 Sistema vestibular.

El sistema vestibular es el encargado de censar la gravedad y las aceleraciones angulares y lineales, integrar estas señales con otras entradas como las oculares y propioceptivas y de esta manera contribuir a la estabilización de la mirada durante el movimiento de la cabeza y el cuerpo, la ubicación de la cabeza en el espacio y el control de la postura. En situaciones en que hay algún tipo de daño o alteración vestibular, estos comportamientos se ven afectados dependiendo de la perturbación específica.

El sistema vestibular está formado por cinco órganos sensoriales: los órganos otolíticos (utrículo y sáculo) y por los canales semicirculares (anterior, posterior y lateral) (Figura 1). Mientras los órganos otolíticos censan las aceleraciones lineales, los canales semicirculares responden a las aceleraciones angulares. Los canales semicirculares son ortogonales entre sí y se presentan en los tres planos del espacio, característica que les permite detectar las aceleraciones angulares producidas en los tres ejes (Guyton & Hall, 2001).

Este sistema, junto con la cóclea, se encuentra formando el oído interno y sus órganos receptores están rodeados por tejido conjuntivo, que constituye el laberinto membranoso y a su vez está cubierto por una capa de hueso laminar, el laberinto óseo, que lo separa del hueso esponjoso del cráneo. En el interior del laberinto membranoso se encuentra la endolinfa, un medio con alta concentración de K^+ y baja concentración de Na^+ y Ca^{2+} , por lo que es semejante al líquido intracelular; el espacio entre el laberinto membranoso y el óseo lo ocupa la perilinfa, que contiene una alta concentración de Na^+ y una baja concentración de K^+ , similar al líquido extracelular (Kandel, 2013).

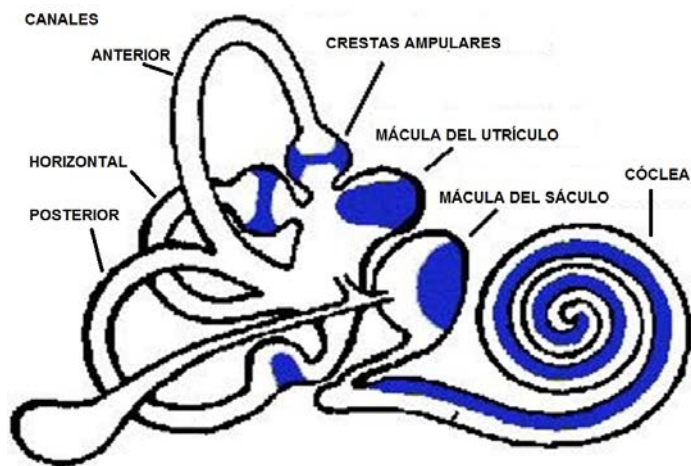


Figura 1. Esquema del oído interno, en donde se destacan en azul las regiones donde se agrupan las células ciliadas formando el neuroepitelio sensorial. En el caso de los órganos otolíticos las máculas del sáculo y del utrículo. En los canales semicirculares las crestas ampulares. Se muestra también el órgano auditivo -la cóclea.

1.1.1 Órganos otolíticos

El utrículo y el sáculo tienen células ciliadas que forman un epitelio sensorial llamado mácula. Estas estructuras responden a aceleraciones lineales gracias a la presencia de una masa sensible -el otolito. La parte superior de la mácula se encuentra adherida a una lámina gelatinosa que es la membrana otolítica. Sobre esta membrana hay partículas densas constituidas por carbonato cálcico en forma de calcita mineral, denominadas otoconias, en conjunto las otoconias y la membrana otolítica forman el otolito (Figura 2). Cada órgano tiene las células sensoriales agrupadas en la mácula, tanto en el utrículo como en el sáculo, está dividida en dos partes por la estriola. Esta es una región distintiva en la cual las células ciliadas de cada lado tienen polarización morfológica opuesta, es decir los ejes de sensibilidad mecánica de las células ciliadas están en direcciones convergentes o divergentes de la estriolas (Kandel, 2013). Debido a que la densidad de la masa otolítica es mayor a la endolinfa, se produce un movimiento del otolito impulsado por la fuerza de gravedad o aceleraciones lineales, lo que ocasionara el desplazamiento de la membrana otolítica. Este desplazamiento flexiona los estereocilios de las células sensoriales constituyendo un estímulo efectivo que dependiendo de la polaridad de las células, causa un aumento o una disminución en el número de impulsos en la fibra vestibular asociada.

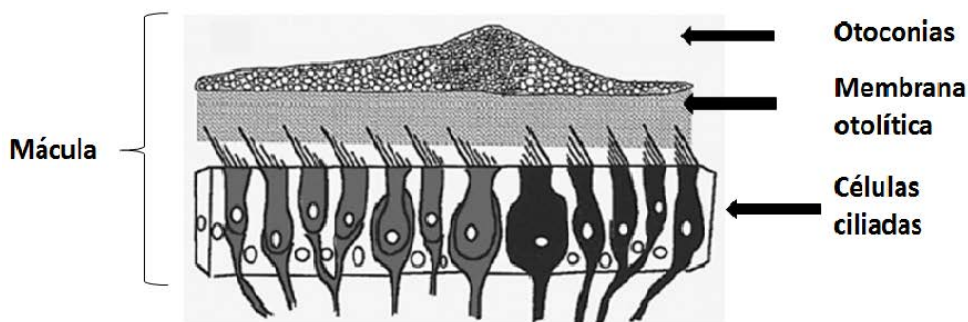


Figura 2. Esquema del neuroepitelio sensorial que forma las máculas otolíticas. Se observan las células ciliadas en contacto con la membrana otolítica y en la superficie la membrana otolítica y las otoconias que en conjunto forman el otolito.

1.1.2 Canales semicirculares

Mientras que los órganos otolíticos responden a las aceleraciones lineales, los canales semicirculares detectan aceleraciones angulares. Los canales semicirculares son conductos cilíndricos, que como su nombre lo indica, forman una semicircunferencia equivalente a alrededor de tres cuartas partes de un círculo completo. Son tres y se denominan según su posición como canal semicircular anterior o superior, posterior o inferior y lateral u horizontal (Figura 3 A). Los canales anteriores se encuentran en un ángulo de 45° hacia afuera y hacia adelante con respecto al eje sagital de la cabeza; los posteriores también se presentan en un ángulo de 45° hacia afuera con respecto al eje sagital de la cabeza, solo que estos están dirigidos hacia atrás. Los canales laterales se ubican en un ángulo de 30° con respecto al eje de la mirada, por lo que una inclinación de la cabeza en este ángulo colocaría al canal en una posición casi horizontal con respecto a la superficie del suelo. De esta manera la respuesta de cada canal está determinada por el tipo de aceleración angular de la cabeza que coincide con el plano del canal semicircular respectivo (Guyton & Hall, 2001). La extensión de cada canal desemboca en el utrículo. Los canales semicirculares presentan en cada extremo una dilatación llamada ámpula, cuyo epitelio sensorial está formado por células ciliadas mecanorreceptoras dispuestas en una forma de cresta, la cresta ampular (Figura 3 B). Los cilios de estas células están en contacto con una masa gelatinosa, la cúpula. El movimiento de la

endolinfa debido a aceleraciones angulares provoca la flexión de la cúpula e inclinación de los cilios; cuando la inclinación es dirigida hacia el kinocilio se produce una despolarización de las células ciliadas, cuando la inclinación es en dirección contraria se produce una hiperpolarización (Hudspeth 1983).

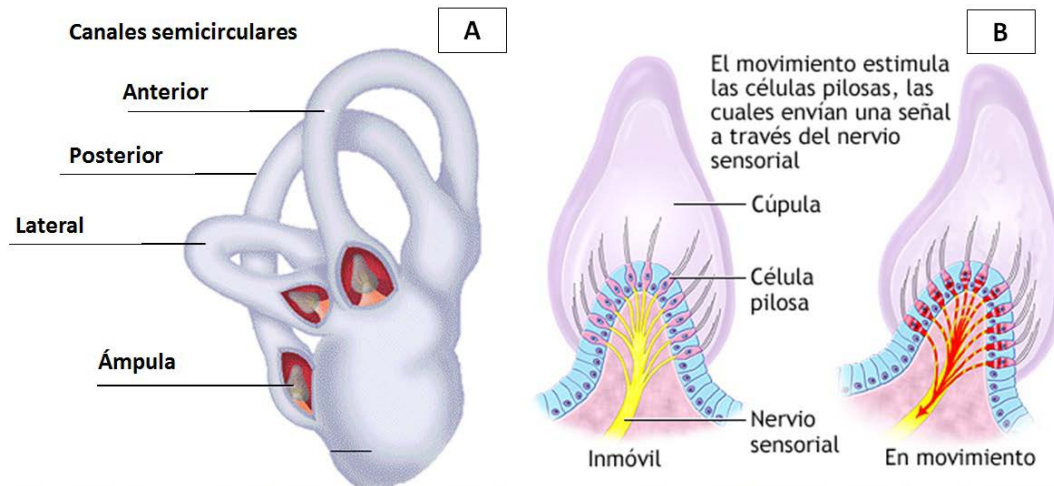


Figura 3. A. Representación de los canales semicirculares y su respectiva posición (anterior, lateral y posterior) y ubicación del ámpula. B. Representación transversal de la cresta ampular formada por células ciliadas en contacto con la cúpula. El movimiento de la endolinfa flexiona la cúpula que a su vez flexionan los cilios de las células sensoriales.

1.1.3 Células ciliadas

El nombre de estas células se debe a que presentan prolongaciones citoplasmáticas en su parte apical conocidas como cilios. Estas células son las encargadas de convertir la energía mecánica, proveniente de un estímulo externo (movimientos de la cabeza), en cambios y señales eléctricas, mediante un proceso conocido como mecanotransducción. Es por esto que las células ciliadas son células mecanorreceptoras y en conjunto constituyen un haz de cilios, una estructura dinámica formada por estereocilios y un kinocilio. Los estereocilios se encuentran conectados entre sí y al kinocilio por las uniones de punta. Están arreglados en series generalmente más cortas que el kinocilio ya que van disminuyendo su tamaño conformen se van alejando del kinocilio. El kinocilio es un cilio verdadero, formado por nueve pares de microtúbulos que corren en toda su longitud y tienen su origen en el cuerpo basal de la célula ciliada. Este kinocilio se encuentra en un extremo del haz de cilios lo que determina la polarización funcional de las células ciliadas tanto de las crestas

ampulares como de las máculas. La importancia de esta polarización radica en la flexión del haz de cilios, en dirección al kinocilio se produce una despolarización y la flexión en sentido contrario produce una hiperpolarización en las células ciliadas (Pickles, 1984; Kandel, 2013).

Las células ciliadas se han clasificado según su morfología e inervación en dos tipos, en células ciliadas tipo I y tipo II (Wersall 1956). Las células tipo I tienen una forma redondeada con un cuello estrecho y esta inervada totalmente por la terminal de una sola fibra aferente en forma de cáliz. Es por esto que la terminal eferente no puede tener contacto directo con la célula ciliada solo puede hacer contacto con la terminal aferente. Las células de tipo II tienen una morfología cilíndrica y están inervadas en su parte basolateral por terminales en forma de botón de la fibra aferente y eferente (Figura 4). A pesar de su clasificación las células ciliadas en vertebrados poseen características similares como los canales de mecanotransducción en las puntas apicales del haz de cilios, los cuales transducen las deflexiones del haz en una corriente de transducción; los canales dependientes de voltaje en la parte basolateral de las células ciliadas que participan en la formación del potencial receptor y los cuerpos sinápticos y vesículas en las zonas activas presinápticas (Eatock, 2002).

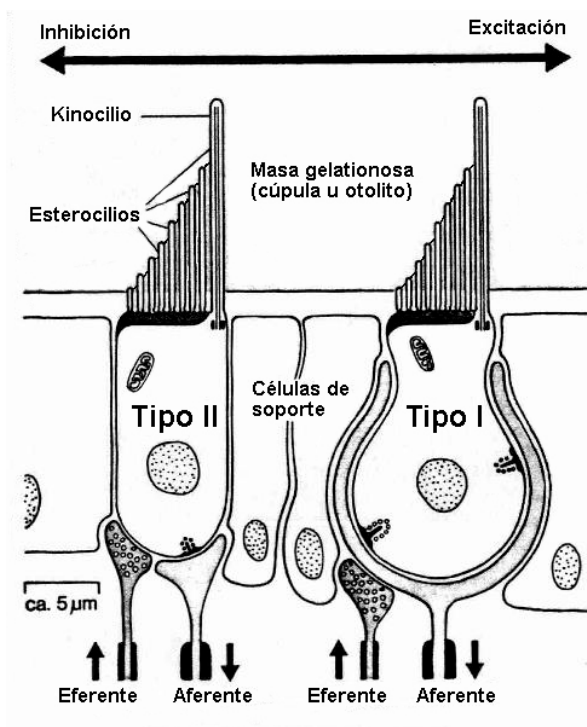


Figura 4. Esquema de los dos tipos de células ciliadas presentes en los anamniotes. Los desplazamientos del haz de cilios en dirección al kinocilio depolarizan y en sentido contrario hiperpolarizan a las células ciliadas- Las células tipo I (más recientes evolutivamente) hacen sinapsis con la neurona aferente en forma de cáliz, en tanto las tipo II lo hacen en forma de botones sinápticos.

1.1.4 Núcleos vestibulares

El complejo nuclear vestibular ocupa una gran porción del bulbo espinal, por debajo y lateralmente al suelo del cuarto ventrículo. Está formado por cuatro núcleos mayores: medial, lateral, superior y descendente (Goldberg 2000; Soto y cols., 1998). El núcleo superior recibe aferencias principalmente de los canales anterior y horizontal, al igual que el núcleo medial, a su vez este núcleo recibe principalmente las fibras aferentes del utrículo y del sáculo. Ambos núcleos están relacionados con los reflejos que controlan la mirada, envían sus fibras a través del fascículo longitudinal medial rostralmente hasta los centros oculomotores y caudalmente hasta la medula espinal. El núcleo lateral recibe principalmente aferencias de órganos otolíticos y canales semicirculares, y se proyecta en el fascículo vestibuloespinal lateral. Este núcleo se le ha relacionado con los reflejos posturales. Y por último, el núcleo descendente recibe las fibras de los órganos otolíticos, llevando información al cerebelo, formación reticular, núcleos vestibulares contralaterales y medula espinal, este núcleo es el encargado de la integración de señales vestibulares y de señales motoras centrales (Kandel, 2013).

1.2 Inervación

El nervio vestibular está formado por las fibras aferentes y eferentes que inervan el neuroepitelio sensorial del vestíbulo membranoso. Las fibras aferentes vestibulares pasan por el meato auditivo interno hasta el ángulo prontocerebeloso, desde donde penetran lateralmente al bulbo, a nivel del puente. Este nervio se divide en dos porciones: la superior, donde se encuentran las aferencias que provienen de las crestas ampulares de los canales semicirculares lateral y anterior, la mácula del utrículo, y la parte anterior del sáculo; y la inferior, que contiene las del canal posterior y la porción posterior de la mácula del sáculo. Los cuerpos de estas neuronas se reúnen en el ganglio de Scarpa (Fernández, 2005).

La inervación sináptica que reciben las células ciliadas en su parte basolateral, es una característica morfológica importante debido a que es diferente en cada tipo de célula, repercutiendo en sus propiedades fisiológicas. Dependiendo del

tipo de células ciliadas que inervan, las neuronas aferentes vestibulares han sido clasificadas en tres tipos de terminaciones aferentes: terminaciones en forma de cáliz (caliciformes), botón (esféricas) y dimórficas (Cullen, 2012; Golberg 2000) (Figura.5. A).

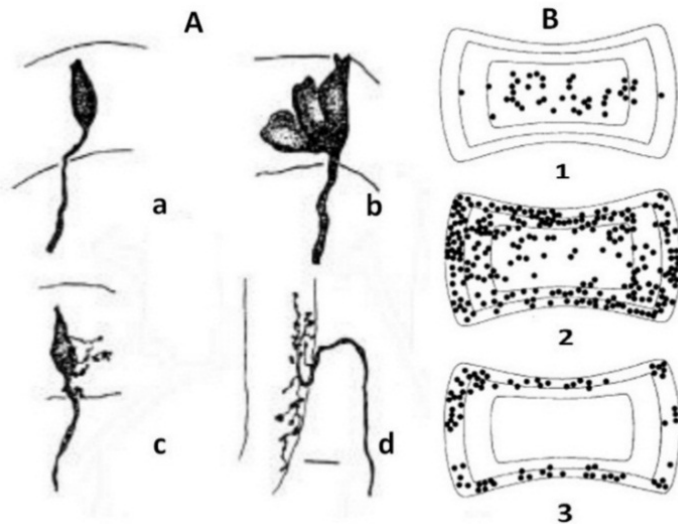


Figura 5. A. Tipos de inervación de las neuronas aferentes vestibulares en la cresta ampular de chinchilla. Las terminales en forma de cáliz (a) y (b), terminales dimórficas (c) y terminales en forma de botón (d). B. Distribución de la inervación aferente en el neuroepitelio de la cresta ampular. Región central del neuroepitelio con terminales caliciformes (1). Región intermedia con terminales dimórficas (2). Región periférica con terminales en forma de botón (3).

La inervación de las crestas ampulares presenta una distribución regionalizada. Si se divide la superficie del neuroepitelio en tres regiones concéntricas, se observa que las fibras con terminales en forma de cáliz, o caliciformes, se localizan casi exclusivamente en la zona más central de las cresta. Los axones que presentan terminales esféricos se distribuyen en la zona más periférica. Por último, las fibras que presentan ambos tipos de terminaciones se distribuyen sobre la zona intermedia (Figura 5.B). Esta distribución de inervación se ha relacionado con la actividad electrofisiológica que presentan las neuronas aferentes vestibulares (Goldberg y cols., 1990).

Las neuronas eferentes vestibulares provienen del tallo cerebral en una región situada por detrás de los núcleos vestibulares (delante el genu del facial) (Cullen, 2012). Estas neuronas hacen contacto sináptico con las células ciliadas tipo II y

contacto post-sináptico con las terminales aferentes en forma de cáliz de las células ciliadas tipo I. Sus somas se localizan en el tallo cerebral principalmente a nivel oliva superior; en mamíferos dirigen sus axones a órganos vestibulares ipsilaterales y contralaterales, mientras que en peces y ranas dirigen sus axones sólo a órganos vestibulares ipsilaterales (Plotnik & Marlinski, 2002). El efecto de inervación eferente puede ser de naturaleza excitatoria, inhibitoria o mixta. La dualidad de sus efectos es debida a la presencia de diferentes receptores colinérgicos, con la participación de receptores nicotínicos en el efecto de inhibición y de receptores muscarínicos en el efecto de excitación. También se ha descrito la posible participación moduladora de otros neurotransmisores eferentes como los péptidos opioides y la serotonina (Vega y Soto, 2003; Soto y cols., 2016) la corriente de K⁺ dependiente de calcio en la células ciliadas (Myers et. al. 1997).

1.3 Fisiología

En el sistema vestibular, la sinapsis aferente tiene como neurotransmisor principal al glutamato y en la sinapsis eferente a la acetilcolina. El glutamato liberado por las células ciliadas interacciona con varios subtipos de receptores NMDA, AMPA/KA, así como receptores metabotrópicos activados por el ácido 1-aminociclopentano-trans- 1,3dicarboxílico (t-ACPD) (Soto y Vega, 1988; Soto et. al., 1994; Flores, 2001). Mientras que la acetilcolina (ACh), liberada por las neuronas eferentes, interacciona con los receptores nicotínicos en el efecto de inhibición y con los receptores muscarínicos en el efecto de excitación (Holt et. al., 2002; Soto, 2009). Además de la liberación de ACh, las neuronas eferentes también liberan el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), sustancia P, encefalinas y neuropéptido Y (Guth et. al., 1998).

Aparte de la liberación de las sustancias descritas, se ha reportado la liberación y producción de otros compuestos tanto en células ciliadas, neuronas aferentes y eferentes, así como en otros tipos de tejido en el oído interno, entre los cuales se encuentran los péptidos opioides, óxido nítrico, histamina, endocannabinoides, GABA, ATP y adenosina (Flores et al., 2001; Vega, 2003; Soto, 2009).

1.4 Neuronas aferentes vestibulares

Las neuronas aferentes vestibulares, cuyos cuerpos se localizan en el ganglio de Scarpa, son de tipo bipolar, están mielinizadas y hacen sinapsis periférica con las células ciliadas de las máculas y cresta ampular. A nivel central estas neuronas hacen sinapsis con los núcleos vestibulares en el tallo cerebral y con neuronas del cerebelo (Goldberg, 1984).

Las neuronas aferentes vestibulares presentan una descarga eléctrica basal que es causada por la liberación espontánea de neurotransmisor por parte de las células ciliadas. Este neurotransmisor, como ya mencionamos, pertenece al grupo de aminoácidos excitadores, lo cual es sustentado por la evidencia del glutamato como neurotransmisor principal en la sinapsis aferente, la presencia de RNA mensajero del receptor NMDA en neuronas del ganglio vestibular y por la participación de receptores NMDA en la codificación de la información vestibular aferente (Guth et. al. 1998; Kataoka & Ohmori, 1994; Soto et. al. 1994). Para comprobar que la célula ciliada libera glutamato o un transmisor análogo, Kataoka y Ohmori, en 1994, emplearon células ciliadas y células granulosas del cerebelo, las cuales son considerablemente sensibles al glutamato, y las colocaron contiguamente para registrar a la célula granulosa mientras se despolarizaba a la célula ciliada. Encontraron que la despolarización de la célula ciliada provocó la activación de los receptores NMDA en las células granulosas y dicho efecto fue bloqueado por un antagonista del receptor NMDA, el 2-amino-5-fosfonoalérgico (APV o AP5). Este estudio respalda consistentemente que el neurotransmisor de la sinapsis aferente vestibular es un aminoácido excitador, al igual que puede puntualizarse que la actividad detectada por la célula granulosa y el antagonismo por APV solamente indica que el agente responsable de tal acción es el glutamato o un análogo a este.

Los receptores con los que interactúa el glutamato, como se mencionó anteriormente, son de tipo NMDA, AMPA, KA y metabotrópicos. Se ha reportado que la activación de los receptores tipo NMDA participan en la descarga basal aferente y en las respuestas tónicas de mayor duración, pero su activación no es esencial para las respuestas a estímulos mecánicos breves, mientras que los receptores de tipo AMPA/KA parecen mediar la descarga basal y la respuesta a

la estimulación mecánica, es decir participan en las respuestas rápidas y de corta duración. Lo cual lleva a la idea de que la descarga aferente vestibular en reposo y la respuesta a la estimulación mecánica pueden ser moduladas de manera diferente (Soto, 1994). Además de los receptores mencionados, también se ha descrito la participación de otros tipos de receptores que pueden modular la respuesta aferente vestibular, entre los cuales se encuentran receptores a opiodes (μ , κ , δ , y ORL-1) (Mollereau, 1994; Vega, 2003; Seseña 2006) receptores a histamina (H_3) (Eubalyn, 1993), y serotoninérgicos (Pineda, 2014) cada uno con un papel modulador distinto sobre la actividad de las neuronas aferentes.

Otras propiedades descritas de las aferentes vestibulares son la sensibilidad y ganancia. La primera hace referencia al cambio de la respuesta ante un estímulo, de lo cual se ha demostrado una relación positiva entre la magnitud de la descarga basal y la sensibilidad de las aferentes vestibulares (Fernández y Golberg, 1976a). La segunda propiedad indica que no existe una mejor frecuencia o frecuencia característica, sino que cada fibra generalmente responde con una ganancia similar a un amplio rango de estimulación, en general se ha descrito que las aferentes vestibulares tienen una sintonización amplia en frecuencias comparadas con su contraparte auditiva (Baird y Golberg, 1988).

1. 4.1 Propiedades de la descarga basal en las neuronas aferentes vestibulares

Una característica principal que define el comportamiento electrofisiológico de las neuronas aferentes vestibulares es la descarga basal que presentan durante la ausencia de movimiento. En contraste, la activación fásica de estas neuronas se produce por el movimiento de la cabeza (Kandel, 2013). Esto permite modular sus respuestas tanto en el sentido de activación, incrementando su frecuencia de descarga, como de inactivación, disminuyendo ésta, durante los movimientos del aparato vestibular generados por la cabeza (Soto y cols., 1988).

Las fibras aferentes que inervan el neuroepitelio sensorial de cada canal y órgano otolítico presentan diversidad en la regularidad de descarga en ausencia de estimulación. Esta regularidad es cuantificable mediante el coeficiente de variación (CV), que es la relación entre la desviación estándar de los intervalos y el intervalo promedio. Pero debido a que el CV varía con el intervalo promedio, se desarrolló el coeficiente de variación normalizado (CV*) para clasificar la frecuencia de descarga de las aferentes vestibulares (Goldberg, 1984). De esta manera las neuronas aferentes vestibulares fueron clasificadas de acuerdo a su CV* en irregulares, regulares e intermedias. Originalmente se pensó que, en los mamíferos, las fibras gruesas con terminación tipo cáliz que inervan la zona central del neuroepitelio podían responder de manera irregular debido a la sinapsis con la célula ciliada tipo I, y que las fibras delgadas que inervan a la zona periférica podían responder regularmente por la sinapsis tipo botón con la célula ciliada tipo II. Sin embargo, Honrubia y colaboradores en 1989, en sus estudios anatómicos y fisiológicos en la rana toro, la cual solo presenta células ciliadas tipo II, encontraron relaciones similares con los mamíferos: los axones gruesos que inervan a la zona central del neuroepitelio descargan irregularmente, los axones delgados que inervan el área periférica descargan de forma regular y axones de tamaño intermedio podían descargar regular o irregularmente. Por lo que la regularidad de descarga no dependía solamente de la sinapsis que establece la neurona aferente con la célula ciliada, sino que también se relaciona con la zona del neuroepitelio que inervan y a su diámetro axonal.

Nuevamente se han generalizado las características principales tanto de las neuronas aferentes regulares como de las irregulares. Las neuronas aferentes vestibulares irregulares tienen axones gruesos y medianos que inervan las zonas centrales y estriolares, sus sinapsis con las células ciliadas pueden ser en terminaciones de cáliz o dimórficas, su dinámica de respuesta es fásico-tónica lo cual les permite tener sensibilidad a la velocidad del desplazamiento de la cúpula o la otoconia, presentan bajo umbral y alta sensibilidad a corrientes galvánicas y debido a que las fibras eferentes hacen sinapsis con estas neuronas exhiben una respuesta de larga duración a la estimulación eléctrica de las fibras eferentes (Eatock et al., 2008).

Las neuronas aferentes regulares poseen axones de diámetros delgados y medianos que inervan las zonas periféricas, hacen sinapsis con las células ciliadas en forma de botón o dimórficas, su dinámica de respuesta es de tipo tónico, tienen baja sensibilidad a las fuerzas lineales y angulares, muestran un alto umbral y respuestas de corta duración a corrientes galvánicas y baja sensibilidad a la estimulación eléctrica de las eferentes (Eatock et al., 2008).

1.5 Proceso funcional del sistema vestibular

El estudio de las características morfológicas y fisiológicas de los órganos vestibulares ha proporcionado información relevante para conocer el mecanismo funcional del vestíbulo. La descripción del proceso de transmisión de información se ha utilizado para el desarrollo de un modelaje matemático con la finalidad de describir y predecir los procesos dinámicos de este sistema. Este modelo representa a grandes rasgos los cinco procesos resumidos en la representación del mecanorreceptor vestibular: la deflexión de los cilios provocada por la aceleración de la cabeza (Vega et. al., 2008; Soto et. al., 1988); el mecanismo de transducción mecanoeléctrica, provocado por el desplazamiento de los cilios, para generar la corriente de transducción (Hudspeth, 1983; Alexandrov et. al., 2001); el cambio del potencial de membrana de la célula ciliada debido a la corriente de transducción (Alexandrov et. al., 2008); la generación de la corriente sináptica hacia la neurona aferente (Alexandrov et. al., 2008); y la alteración del potencial de membrana de la neurona aferente para producir el potencial de acción (Sadovnichy et. al., 2007).

2. ANTECEDENTES

2.1 Estimulación eléctrica

Existen varios tipos de estimulación eléctrica, que se han desarrollado debido al avance en el conocimiento sobre los tejidos eléctricamente excitables. En los años sesentas se demostró que la estimulación con corriente continua transcraneal (tDCS, Transcranial direct current stimulation) es capaz de afectar las funciones cerebrales mediante la modulación de la excitabilidad cortical (Albert, 1966). Esto puede lograrse mediante la colocación de electrodos con diferente polaridad en distintas regiones de la superficie del cráneo y de esta manera excitar el tejido neural profundo. Conforme se ha avanzado en la aplicación y desarrollo de otras técnicas de estimulación cerebral se ha demostrado la capacidad que tienen para inducir cambios en las funciones cerebrales tales como motoras, sensoriales, cognitivas o emocionales. No solo han demostrado el potencial que tienen para afectar la excitabilidad del tejido nervioso, sino que también han aportado grandes avances que pueden ampliar nuestro conocimiento acerca del sistema nervioso. Entre las variantes de la técnica tDCS se encuentra la estimulación galvánica vestibular (EGV), en donde el sistema vestibular es estimulado con dos electrodos colocados en cada hueso mastoideo detrás de las orejas. La EGV se ha empleado como una técnica simple, segura y específica para provocar reflejos vestibulares. La EGV no solo provoca la activación eléctrica de las aferentes vestibulares periféricas, sino también afecta diferentes áreas vestibulares corticales y regiones corticales vecinas, por esta razón se ha extendido el estudio de las diferentes respuestas que puede provocar la EGV sobre la percepción de la orientación de la cabeza, reflejos posturales, corticales, oculares y motores (Lewis, 2013; Pliego 2013; Gong, 2008).

Dentro de los estudios realizados con EGV se encuentra el de Lewis en el 2013, donde demostró que la estimulación eléctrica de las aferentes de los canales semicirculares (simulando una aceleración en el plano longitudinal) en mamífero (*Macaca mulatta*) afecta la percepción de la orientación de la cabeza, ya que al entrenar a los monos para alinear una barra de luz paralela a la normal, el canal posterior derecho fue estimulado desviando las respuestas de alineación de la

barra hacia la izquierda indicando una percepción errónea de la inclinación de la cabeza. En otros estudios esta percepción errónea de orientación de la cabeza se la atribuyen a la posición de los electrodos y al empate del estímulo mecánico y eléctrico (en este caso la EGV) (Fitzpatrick et al., 2004).

También se ha demostrado que la posición y polaridad de los electrodos durante la EGV puede cambiar el sitio de activación. Cuando el arreglo de electrodos es izquierdo-ánodo y derecho-cátodo produce una activación unilateral del hemisferio derecho, mientras que el arreglo izquierdo-cátodo y derecho-ánodo la activación es bilateral de ambas cortezas vestibulares. Esto se ha probado en humanos (Utz et, al. 2010).

En mamíferos, como el mono ardilla se ha comparado el reflejo vestibulo-ocular (VOR) provocado por estimulación eléctrica unilateral y bilateral del nervio de los canales semicirculares laterales, indicando que las respuestas VOR producidas por estimulación bilateral son la suma de las respuestas provocadas por la estimulación unilateral de la oreja izquierda y la estimulación unilateral derecha. Estos hallazgos sugieren que la elaboración de una prótesis vestibular unilateral y/o bilateral es igualmente viable (Gong, 2008). Esto nos indica que una respuesta de estimulación eléctrica unilateral en teoría debe ser sólo una parte de una respuesta integrada en todo el sistema y al ser agregada a otra respuesta nos puede demostrar si se trata de una activación o cancelación en este sistema.

Posiblemente, la estimulación galvánica modula la descarga tónica de las aferentes, actuando directamente en aquellas que se encuentran en sitio post-sináptico, debido a que se ha demostrado que la corriente catódica puede aumentar la frecuencia de descarga, mientras que la anódica la disminuye. No se descarta la posibilidad de que la EGV pueda influir en la respuesta sensorial del epitelio de la cresta ampular y máculas, lo que implicaría su interferencia a nivel de la transducción mecanoeléctrica de las células ciliadas (Britton et, al. 2003, Wardman et al. 2003; Fitzpatrick & Day, 2004).

Dado este conjunto de información se ha podido elaborar el diseño de una prótesis vestibular, que puede ser aplicada para compensar daños o simular alteraciones extremas que influyan en la dinámica funcional del sistema vestibular. Una de las circunstancias que cambia drásticamente las condiciones

para el procesamiento vestibular adecuado es la que experimentan los pilotos y astronautas, afectando su percepción de ubicación en el ambiente en el que se encuentren, influyendo de esta manera en el control del vehículo que manejan. Es por esto que es importante un entrenamiento que simule todas estas situaciones. Una alternativa reciente de entrenamiento es mediante la estimulación galvánica vestibular, con la cual es posible simular las condiciones extremas que afectan el proceso informativo vestibular, como la desorientación espacial que experimenta el astronauta después del vuelo (Alexandrov et al. 2015).

Hay suficientes fundamentos para explicar los efectos de la estimulación galvánica vestibular, sin embargo aún no se logra esclarecer la manera en ¿Cómo este estímulo es recibido en el sistema?, es decir ¿Cómo es la señal de entrada? Y ¿En a qué nivel actúa?

De manera muy general el análisis de la actividad eléctrica de una fibra o célula nerviosa nos aporta datos que sirven para conocer su comportamiento y función en el sistema al que pertenecen. Por ejemplo en las fibras aferentes vestibulares de mamíferos se han descrito las propiedades de la regularidad de descarga basal y ante una estimulación, dando lugar a la clasificación de estas aferentes en regulares e irregulares. La importancia de estudiar la respuesta/actividad basal del nervio vestibular ante la estimulación eléctrica puede arrojar datos relevantes que puedan enfocarse en el modelo del mecanorreceptor y considerar como este tipo de estímulo influye en el procesamiento funcional del vestíbulo.

3. JUSTIFICACIÓN

Los diferentes tipos de estimulación eléctrica vestibular, como se menciona anteriormente, pueden activar distintas áreas vestibulares a nivel central y periférico, provocando diversas respuestas a evaluar. Las variantes de la técnica de estimulación eléctrica no reportan específicamente la activación de una sola región vestibular. Para discernir a qué nivel la estimulación eléctrica activa el sistema vestibular este trabajo únicamente se enfoca a nivel periférico, ya que se pretende comparar la frecuencia de descarga basal del nervio aferente vestibular en rata ante la estimulación eléctrica para conocer información sobre la corriente que responde la preparación del vestíbulo aislado en rata.

4. HIPÓTESIS

La estimulación eléctrica de campo en la preparación del vestíbulo aislado produce una respuesta excitatoria de la descarga del nervio vestibular que es la base del efecto de la EGV sobre las respuestas vestibulares de orientación.

5. OBJETIVOS

Describir las respuestas electrofisiológicas del nervio vestibular aferente durante la aplicación de un estímulo de corriente continua.

5.1 Objetivos Particulares

- Determinar los valores de inyección de corriente a los que responde el nervio aferente en la preparación del vestíbulo aislado en rata.
- Describir la frecuencia de descarga basal del nervio aferente vestibular en rata y ante la estimulación eléctrica.
- Definir la relación estímulo-respuesta del nervio aferente vestibular ante un estímulo eléctrico.
- Determinar la adaptación de la respuesta de las aferentes vestibulares ante un estímulo eléctrico.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Animal de experimentación

Se utilizaron ratas Long Evans cepa CII de 14 a 17 días (sin considerar el sexo) debido a que en este rango de edad el sistema vestibular de la rata ya es funcional y pueden realizarse registros electrofisiológicos (Curthoys, 1979). Además el hueso temporal que cubre el laberinto membranoso y el nervio vestibular no está completamente osificado durante este período, por lo que la disección para aislar este sistema es menos dificultosa. Se utilizó a la rata de la cepa Long Evans debido a que esta rata no presenta alguna patología propia de esta cepa (por ejemplo albinismo en Wistar y Sprague Dawley) y son un tipo de rata con el que se han realizado registros electrofisiológicos en nuestro laboratorio (Ortega, 2009; Pineda, 2014). El cuidado y procedimientos de los animales se realizaron conforme a los "Principios Rectores en el cuidado y uso de animales vertebrados en la Investigación y la Formación" de la Sociedad Fisiológica Americana y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia

de Investigación para la Salud de la Secretaría de Salud de México. Los animales fueron proporcionados por el Bioterio "Claude Bernard" de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

6.2 Obtención de la preparación

Para obtener la preparación del oído interno de la rata, se anestesia al animal con sevoflurano (anestésico por inhalación) y se sacrifica por decapitación. Se hace un corte a nivel temporomandibular para quitar la mandíbula, luego se retira la piel y se abre la bóveda craneana para sacar el encéfalo, después se separa el maxilar y se realiza un corte de la base del cráneo hasta el agujero magno para obtener los temporales del cráneo. Posteriormente la preparación es colocada en la cámara de registro para llevarse a cabo la microdissección en el microscopio estereoscópico (Nikon SMZ-10), en donde cuidadosamente se remueve el hueso temporal para descubrir el ámpula del canal semicircular anterior, así como sus fibras nerviosas. Durante todo el experimento la preparación es perfundida con solución extracelular Tyrode fosfatos con la siguiente composición en mM: NaCl 115, KCl 2.5, MgCl₂ 1, CaCl 2.5, NaHCO₃ 25, Na₂HPO₄ 1; que es burbujeada con gas carbógeno (95% O y 5% CO₂) y mantenida a una temperatura de 37°C usando un sistema de control de temperatura (Warner TC-324B). El pH de la solución se ajusta a 7.5 con HCl. En la figura 6 se observa una microfotografía de la preparación obtenida con el microscopio estereoscópico. La preparación consta de los órganos vestibulares (sin lesionar el laberinto membranoso) y el nervio vestibular.

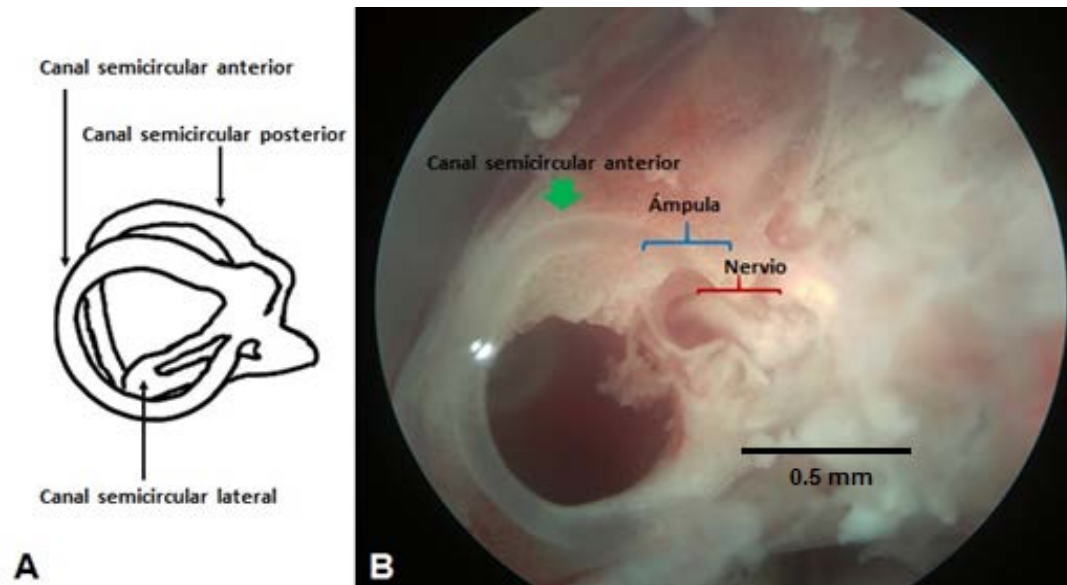


Figura 6. A. Representación de la ubicación de los canales semicirculares en la cámara de registro. B. Preparación de vestíbulo aislado vista en el microscopio estereoscópico; la flecha verde indica la posición del canal semicircular anterior, la llave azul determina el área traslúcida del ámpula y la llave roja muestra la región del nervio vestibular.

6.3 Registro extracelular multiunitario

Con este tipo de registro podemos evaluar la actividad eléctrica del nervio vestibular en una preparación del vestíbulo aislado que mantiene en estado funcional a las sinapsis entre las células ciliadas y aferentes vestibulares. Para registrar la actividad del nervio vestibular se empleó un electrodo de succión cuya punta se llena con solución extracelular tyrode fosfatos hasta hacer contacto con el alambre de plata clorurada que se encuentra en su interior. Mediante un manipulador se coloca el electrodo al extremo libre del nervio y se succiona aplicando presión negativa; de esta manera se forma un sello de alta resistencia eléctrica entre el interior y el exterior del electrodo, lo que determina que se puedan registrar las variaciones de voltaje del nervio. El electrodo se encuentra conectado a un amplificador DP-301 (Warner Instrument Corporation), el cual filtra la señal, posteriormente la señal es enviada a un osciloscopio (Tektronix 2216) y a un discriminador de ventana que convierte las descargas del nervio aferente en pulsos TTL. La salida del discriminador de ventana se conecta a una computadora y mediante un sistema de análisis permite construir los histogramas de frecuencia de la actividad eléctrica de las neuronas aferentes vestibulares (Soto y Vega, 1987).

6.4 Protocolo experimental

Para la estimulación eléctrica se colocaron dos electrodos de platino en las partes laterales de la cámara de registro. La Figura 7 muestra la colocación de la preparación del vestíbulo aislado en la cámara de registro, así como la ubicación de los electrodos de platino, vista horizontalmente. Los electrodos están conectados a una unidad aisladora de estímulos (WPI Modelo 305-R) para la inyección de corriente. La unidad aisladora de estímulos fue controlada mediante una unidad de manejo ISO DRIVE Modelo 1880. Para estimar la respuesta ante el estímulo eléctrico aplicado se evaluaron registros de un minuto de duración. Se realizó un registro control de aproximadamente 20 segundos de la actividad eléctrica basal del nervio y enseguida se aplicó un estímulo de corriente continua con una duración de 10 segundos. Se obtuvo la amplitud del estímulo al que responden las aferentes vestibulares y fue evaluada en un rango de microamperios.

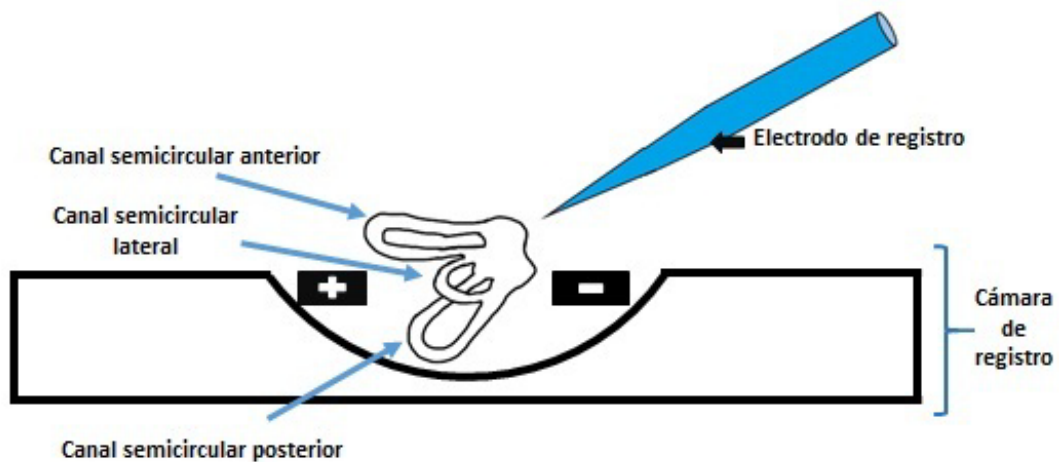


Figura 7. Vista horizontal de la cámara de registro donde se logra distinguir la orientación de los canales semicirculares. Los rectángulos negros con símbolos positivo (+) y negativo (-) representan la colocación de los electrodos de platino en la cámara de registro.

Protocolo de estimulación: Polaridad normal e invertida.

La unidad aisladora de estímulos (WPI Modelo 305-R) tiene la opción de cambiar la dirección de la corriente inyectada, por lo tal se define a continuación como fluye la corriente en la preparación del vestíbulo aislado cuando se aplican pulsos con polaridad normal (positivos) y con polaridad invertida (pulsos negativos) (Figura 8).

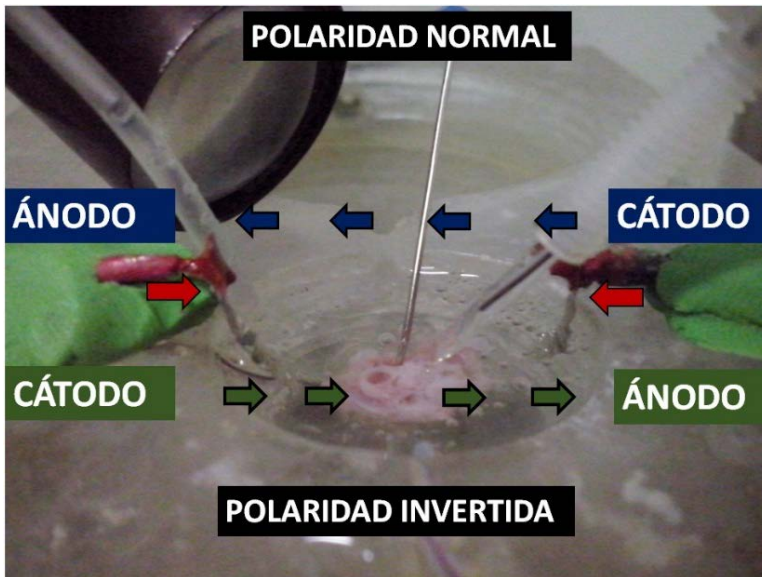


Figura 8. En la parte superior de la imagen se presenta la dirección de la corriente cuando se aplica el protocolo de estimulación con polaridad normal. Las flechas azules indican como fluye la corriente. En la parte inferior de la imagen las flechas verdes indican la dirección de la corriente cuando se aplica el protocolo de estimulación con polaridad invertida. Las flechas rojas señalan los electrodos de estimulación.

Análisis del registro extracelular multiunitario.

Con el programa elaborado en el laboratorio Turbo Pascal FREC2000 (Soto y Vega, 1987) se midió la cantidad de impulsos (espigas) por segundo (ips) en condiciones control y ante la inyección de corriente continua, posteriormente los valores ips se promediaron y representaron en gráficas de barras. De los histogramas de frecuencia construidos se obtuvo el promedio de un intervalo representativo de:

1. La frecuencia de descarga basal precedente al estímulo eléctrico como actividad control (**C**).

2. La frecuencia de disparo máxima o mínima en respuesta al estímulo como el pico de actividad= Respuesta al pico (**P**).
3. La frecuencia de disparo persistente antes de finalizar el estímulo como la actividad en estado estable (**E**).

Para describir la relación estímulo- respuesta de las aferentes vestibulares a la estimulación eléctrica, se calculó el índice de cambio que resulta de dividir la frecuencia de disparo máxima o mínima en respuesta al estímulo entre la frecuencia de descarga basal. Para definir la adaptación de la respuesta al estímulo eléctrico se evaluó la frecuencia de descarga estable persistente al estímulo entre la frecuencia de disparo máximo o mínima (Figura 9).

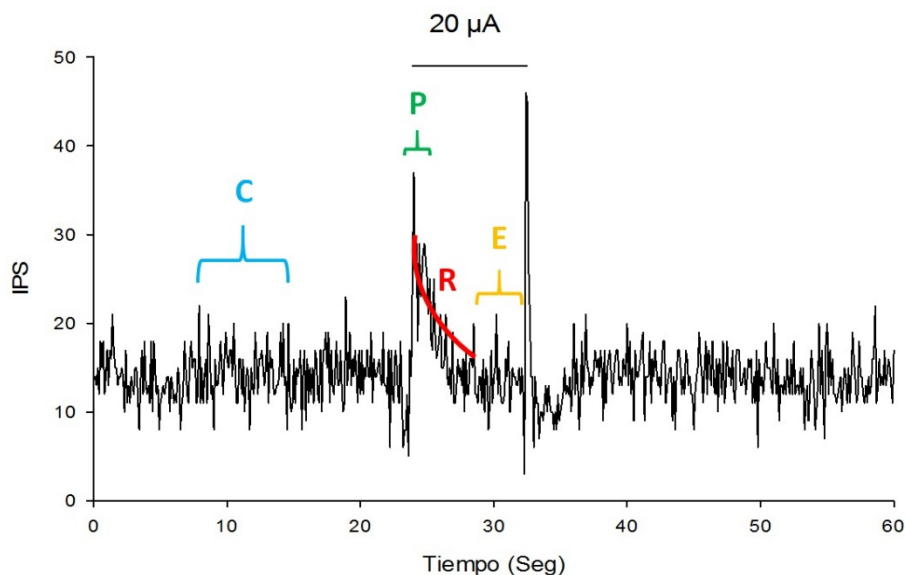


Figura 9. Parámetros a evaluar de la respuesta del nervio aferente vestibular ante un estímulo eléctrico. La frecuencia de descarga basal precedente al estímulo eléctrico como actividad control (**C**). La frecuencia de disparo máxima o mínima en respuesta al estímulo como respuesta al pico (**P**). La frecuencia de disparo persistente antes de finalizar el estímulo como actividad en estado estable (**E**). Ajuste exponencial (τ y bondad de ajuste= **R**).

Al obtener las primeras respuestas del nervio vestibular aferente ante pulsos positivos se observó un pico de actividad que decae exponencialmente, por lo cual se realizó un ajuste exponencial para obtener los valores de tau y la prueba de bondad de ajuste de cada respuesta.

7. RESULTADOS

El nervio aferente vestibular del canal semicircular anterior respondió ante la aplicación de los siguientes pulsos positivos: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 90 μA ; y a los pulsos negativos: -10, -20, -30, -40, -50, -60, -70, -80 y -90 μA . Los registros realizados duraron aproximadamente de 40 a 60 minutos para prevenir la saturación de estímulos eléctricos en la preparación del vestíbulo aislado. La actividad eléctrica basal promedio en general fue de 8.1 ± 0.5 (Promedio \pm error estándar).

Protocolo de estimulación con Polaridad normal

A continuación se muestran los promedios de la frecuencia de descarga (impulsos por segundo = ips) del nervio aferente vestibular, antes de aplicar un pulso de corriente eléctrica (actividad control), la respuesta ante el pulso como la respuesta al pico y la actividad del nervio durante los últimos segundos del pulso (Figura 10). En los pulsos aplicados con amplitudes desde 10 μA hasta 90 μA se observa claramente una respuesta con pico excitatorio ante el inicio del pulso (Figura 11). Enseguida del pico excitatorio la respuesta decae de manera exponencial e inmediatamente parece recuperarse, aunque como se muestra en la figura 10, la actividad promedio del nervio vestibular en el estado estable (en los últimos 3 segundos) durante los pulsos 10, 30, 50, 60, 70, 80 y 90 μA es menor con respecto a su actividad basal promedio. Mientras que en las amplitudes de 20 y 40 μA el promedio de la actividad en el estado estable es mayor.

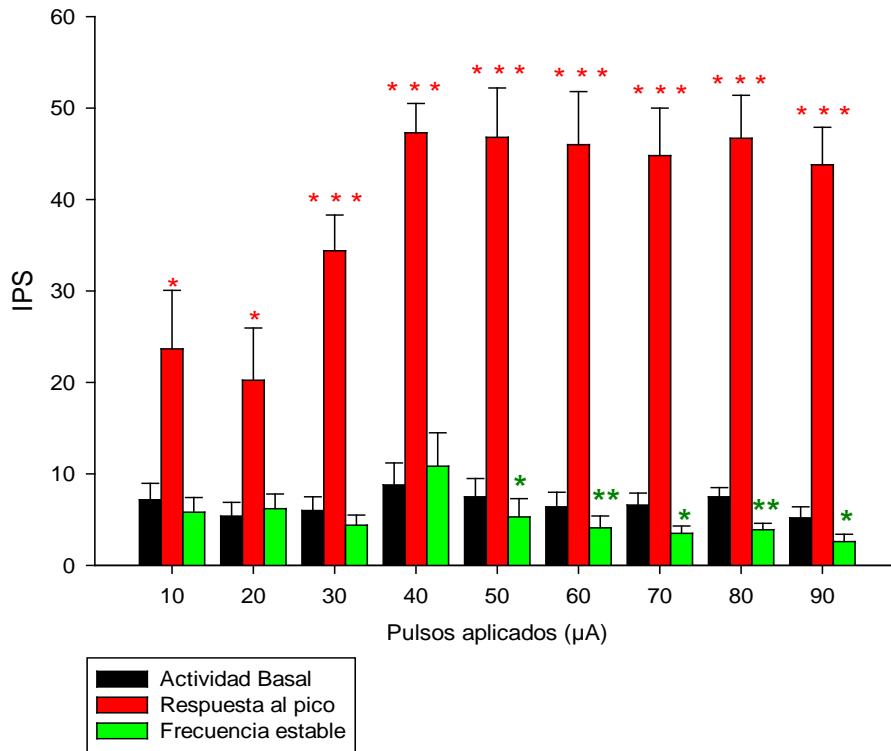


Figura 10. Promedios de la frecuencia de descarga basal, los promedios de la respuesta al pico ante cada pulso aplicado y el promedio de la frecuencia de descarga durante los últimos segundos de la aplicación del pulso. Aplicamos una prueba t-pareada y los resultados estadísticamente diferentes se indican con: * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$.

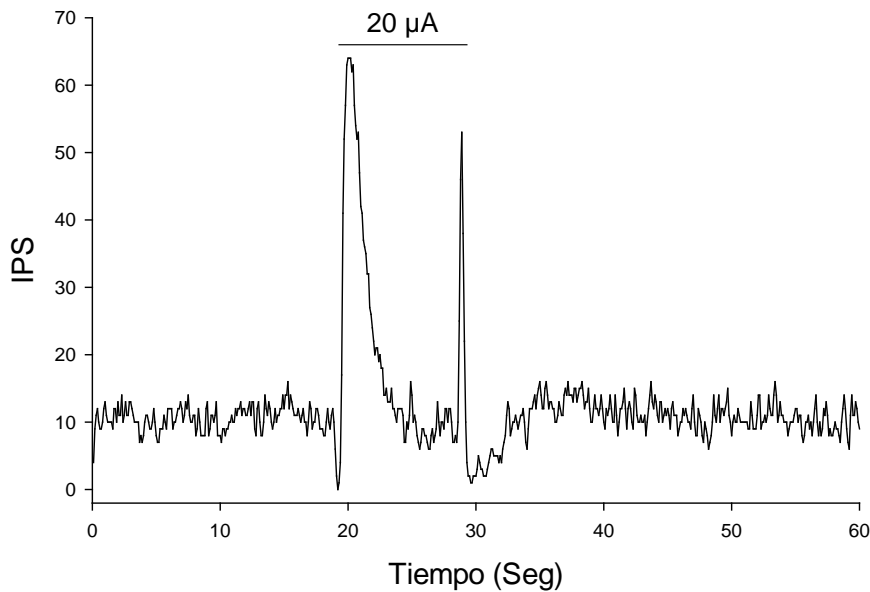


Figura 11. Registro extracelular multiunitario del nervio aferente vestibular. Respuesta del nervio ante la aplicación de un pulso de $20\mu\text{A}$ (Protocolo de estimulación con polaridad normal).

Se determinó también el cambio normalizado con su propio control (Figura 12) en este caso, la frecuencia basal se normalizo como un 100 % y posteriormente se calculó el porcentaje de respuesta que se obtiene al pico de la aplicación a cada pulso y el porcentaje de la frecuencia de disparo que se mantiene en estado estable antes de finalizar el pulso. En el caso del protocolo de estimulación con polaridad normal se ve un aumento en el porcentaje de respuesta al pico. En el porcentaje de respuesta en estado estable también hay un aumento en los pulsos de 20 y 40 μA , mientras que en las demás amplitudes este porcentaje disminuye (Figura 12).

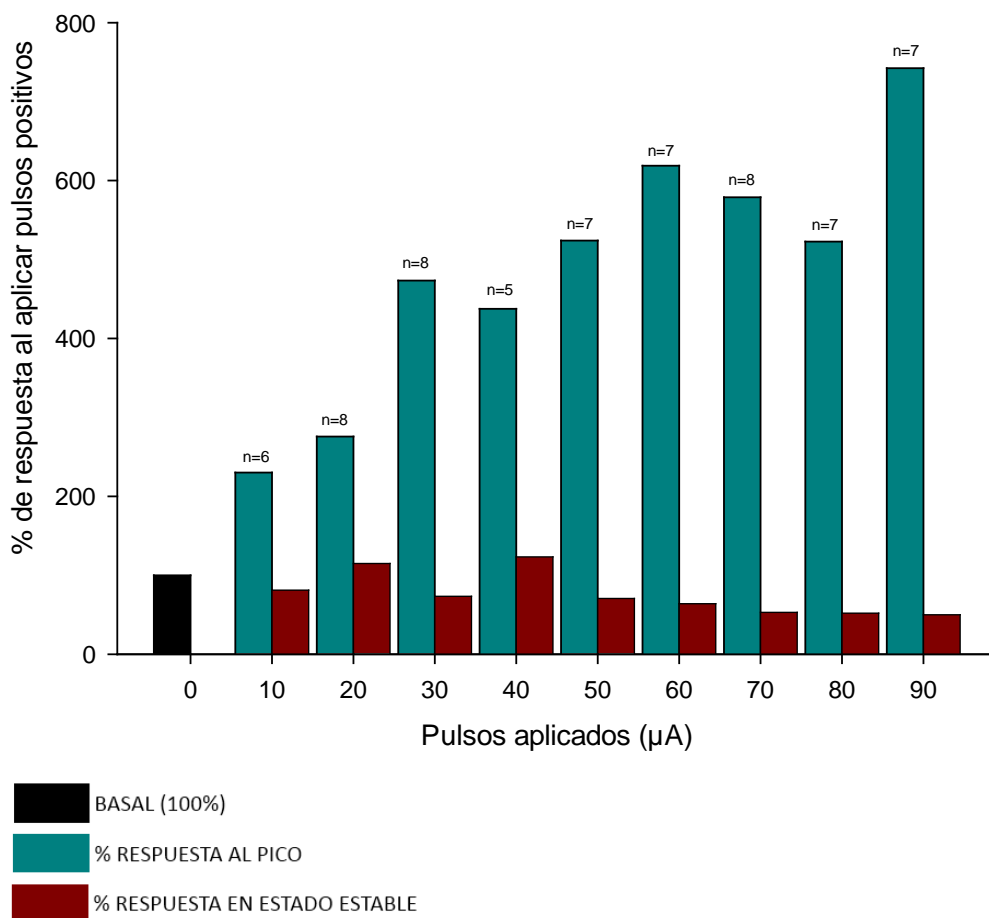


Figura 12. Se muestra el porcentaje de aumento de la respuesta ante un pulso de corriente, tomando en cuenta los promedios de cada respuesta al pico con sus respectivos promedios de la actividad basal. Al igual que se presentan los valores del porcentaje de respuesta en estado estable.

Protocolo de estimulación con Polaridad invertida

Cuando se cambia de polaridad normal a invertida la actividad promedio al pico es menor al de la actividad basal, mientras que la frecuencia de disparo en el estado estable aumenta (Figura 13). En el rango de -10 a -90 μA todas las respuestas al pico fueron menores comparadas con el promedio de su actividad basal (Figura 13). Al inicio del pulso la frecuencia de disparo disminuye muy significativamente. Sin embargo, enseguida se recupera y no solamente eso, sino que la actividad durante los últimos segundos de estimulación es mayor que la frecuencia basal promedio (Figura 13 y Figura 14).

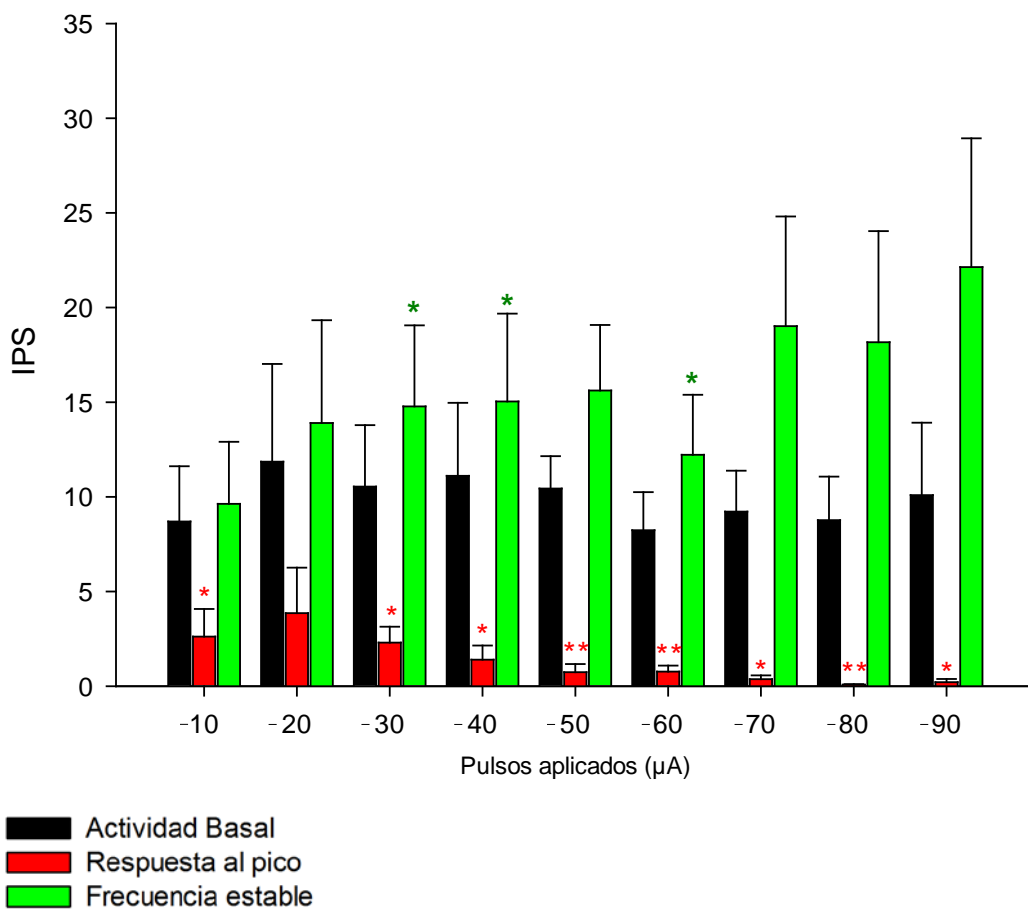


Figura 13. Promedios de la actividad basal, de la respuesta al pico ante el pulso y la actividad del nervio durante la estimulación eléctrica con polaridad invertida. Aplicamos una prueba t-pareada y los resultados estadísticamente diferentes se indican con: *= $p < 0.05$; **= $p < 0.01$; ***= $p < 0.001$.

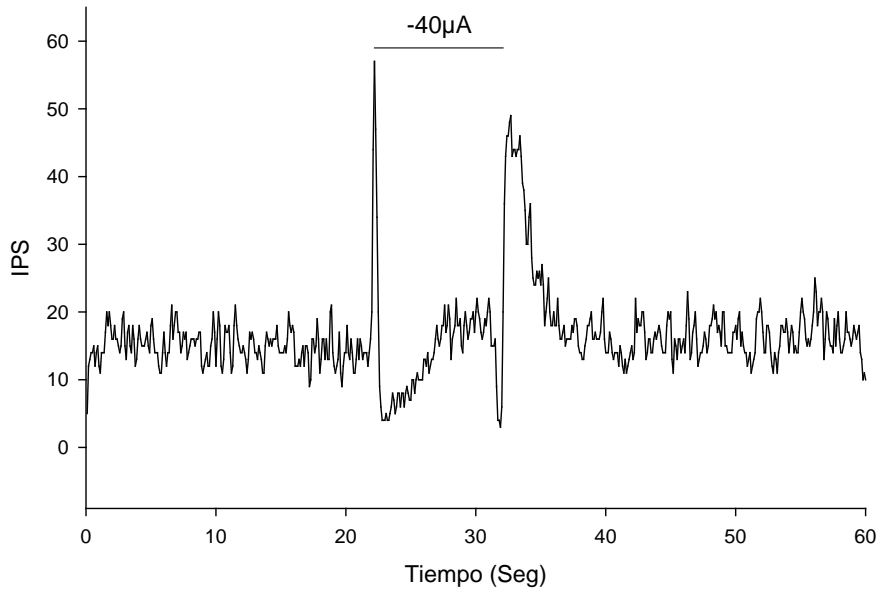


Figura 14. Respuesta del nervio aferente vestibular a los pulsos con polaridad invertida. Aplicación de un pulso de $-40\mu\text{A}$. Se logra ver una disminución de la respuesta al pico, la recuperación y aumento de ips (impulsos por segundos) antes de finalizar el estímulo.

Así como se analizó el porcentaje de respuesta al pico ante los pulsos positivos, también se obtuvo este mismo porcentaje con los pulsos negativos. En este caso el porcentaje de respuesta al pico disminuye (Figura 15). De igual forma se muestra el porcentaje de respuesta en estado estable, el cual aumenta en todas las amplitudes desde -10 a $-90 \mu\text{A}$.

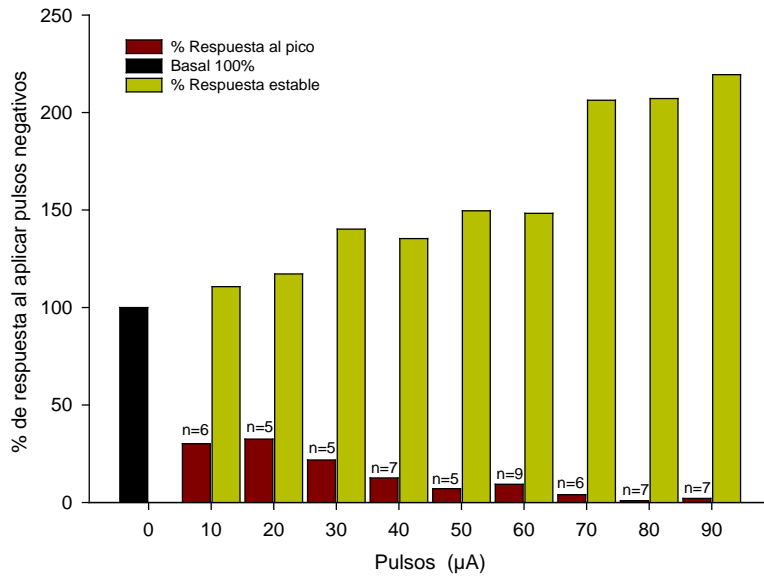


Figura 15. Porcentaje de respuesta al aplicar un pulso de corriente eléctrica con polaridad negativa. Se observa la disminución de la respuesta al pico con respecto de la frecuencia basal y el aumento de la respuesta durante el estado estable. Se tomaron en cuenta los promedios de cada respuesta con sus respectivos promedios de la actividad basal.

Índice de cambio e índice de adaptación.

Para definir la relación de la respuesta del nervio aferente vestibular ante la estimulación eléctrica se utilizó el índice de cambio, el cual se obtuvo de dividir un rango promedio de la respuesta al pico entre un rango promedio de la actividad basal. Por lo tanto, se graficó los promedios de los índices de cambio de cada respuesta contra la amplitud de los pulsos aplicados. A la gráfica resultante se le aplicó un ajuste tipo sigmoideo (Figura 16).

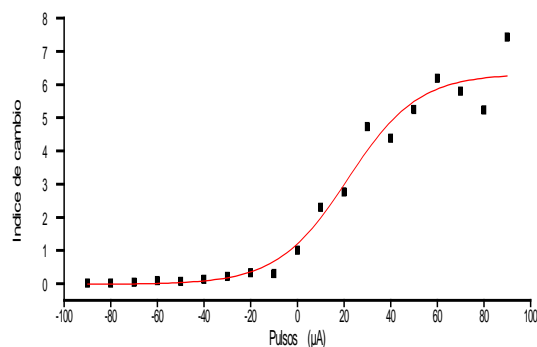


Figura 16. Relación estímulo –respuesta del nervio aferente vestibular ante la estimulación eléctrica. Se muestra el índice de cambio de las respuestas obtenidas a cada pulso (negativo y positivo). El ajuste tipo Boltzmann (OriginPro 8) arrojó un valor de $R= 0.985$ y $\text{Chi}^2=0.244$.

Para determinar la adaptación de la respuesta se realizó el índice de adaptación, el cual se obtuvo al dividir el promedio de la frecuencia de disparo en estado estable entre el promedio de la respuesta al pico. En este caso no se ve una relación de la adaptación de la respuesta en función de la amplitud del pulso. Sin embargo, como se menciona anteriormente, se observa que en el protocolo de estimulación con polaridad invertida la respuesta en estado estable aumenta de manera significativa, es decir probablemente la adaptación de la respuesta no dependa de la magnitud del estímulo eléctrico ya que siempre se recupera la actividad del nervio. A pesar de no determinar una relación de la adaptación de la respuesta estable ante la magnitud del pulso, puede observarse que la disminución porcentual de esta respuesta parece estar correlacionada con magnitud del pulso aplicado (en las respuestas con el protocolo de polaridad normal). Y de manera inversa, el aumento porcentual de la respuesta en estable con pulsos de polaridad invertida

En todas las respuestas al pico, en el protocolo de estimulación con polaridad normal, fue posible realizar un ajuste exponencial obteniendo los valores de tau (τ) y las pruebas de bondad de ajustes (R) presentados en la tabla 1. En la modalidad con polaridad invertida, no todas las respuestas se acoplaron a este ajuste (Tabla 2).

Respuesta ante pulsos de corriente con polaridad normal (n=64).

| Amplitud | τ |
|------------|------------------|
| 10 μ A | 18.33 \pm 5.46 |
| 20 μ A | 13.98 \pm 1.64 |
| 30 μ A | 12.61 \pm 1.34 |
| 40 μ A | 15.43 \pm 3.57 |
| 50 μ A | 22.89 \pm 8.03 |
| 60 μ A | 12.43 \pm 1.81 |
| 70 μ A | 13.19 \pm 1.52 |
| 80 μ A | 13.95 \pm 1.43 |
| 90 μ A | 12.5 \pm 1.11 |

Tabla 1. Valores promedio \pm EE de la constante de decaimiento (τ) de la respuesta del nervio aferente vestibular ante los pulsos aplicados con polaridad normal.

Respuesta ante pulsos de corriente con polaridad invertida (n=58).

| Experimento | Amplitud | Descarga basal | Respuesta al pico | % de respuesta pico/basal | % de disminución de la respuesta | Respuesta al final del estímulo | Índice de adaptación final/pico | Tau | Bondad de ajuste |
|-------------|--------------|----------------|-------------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------|------------------|
| VR62232 | - 10 μ A | 3 | 0,3 | 10,00 | 90,00 | 3 | 10,00 | 63,87073 | 0,46 |
| VR62255 | - 10 μ A | 1,3 | 0 | 0,00 | 100,00 | 1,6 | 1,60 | 0,00 | 0,00 |
| VR62423 | - 10 μ A | 21,6 | 9,7 | 44,91 | 55,09 | 24 | 2,47 | -2921,784 | 0,80 |
| VR625_2 | - 10 μ A | 8,6 | 1,7 | 19,77 | 80,23 | 7,7 | 4,53 | 19,43536 | 0,71 |
| VR62526 | - 10 μ A | 8 | 2,2 | 27,50 | 72,50 | 10 | 4,55 | -132,3035 | 0,80 |
| VR62620 | - 10 μ A | 9,7 | 1,8 | 18,56 | 81,44 | 11,5 | 6,39 | -40,08738 | 0,76 |
| VR61313 | - 20 μ A | 3,5 | 0,6 | 17,14 | 82,86 | 3 | 5,00 | -59,38382 | 0,69 |
| VR61514 | - 20 μ A | 9,3 | 3,3 | 35,48 | 64,52 | 12,3 | 3,73 | 29,24266 | 0,85 |
| VR62249 | - 20 μ A | 2,5 | 0,2 | 8,00 | 92,00 | 4,2 | 21,00 | -68,03745 | 0,81 |
| VR624_8 | - 20 μ A | 31 | 13,2 | 42,58 | 57,42 | 33 | 2,50 | -1646,53 | 0,86 |
| VR62510 | - 20 μ A | 13 | 2 | 15,38 | 84,62 | 17 | 8,50 | -164,8533 | 0,92 |
| VR61519 | - 30 μ A | 14 | 5 | 35,71 | 64,29 | 20,6 | 4,12 | -1054,584 | 0,91 |
| VR62241 | - 30 μ A | 4 | 1,2 | 30,00 | 70,00 | 6 | 5,00 | 37,193 | 0,80 |
| VR62334 | - 30 μ A | 3 | 2 | 66,67 | 33,33 | 4,2 | 2,10 | 351,07656 | 0,51 |
| VR62421 | - 30 μ A | 20,5 | 3,2 | 15,61 | 84,39 | 26,6 | 8,31 | 58,27623 | 0,92 |
| VR62519 | - 30 μ A | 11,2 | 0,1 | 0,89 | 99,11 | 16,5 | 165,00 | -8247,313 | 0,90 |
| VR612_3 | - 40 μ A | 3 | 1,6 | 53,33 | 46,67 | 3,2 | 2,00 | 12,46614 | 0,63 |
| VR61525 | - 40 μ A | 15,2 | 5,2 | 34,21 | 65,79 | 18 | 3,46 | 54,70736 | 0,93 |
| VR62234 | - 40 μ A | 3 | 0 | 0,00 | 100,00 | 4,6 | 4,60 | -413,06 | 0,46 |
| VR62330 | - 40 μ A | 1,2 | 0,1 | 8,33 | 91,67 | 2 | 20,00 | 153,72143 | 0,58 |
| VR62416 | - 40 μ A | 30 | 2,8 | 9,33 | 90,67 | 35 | 12,50 | -69,32067 | 0,95 |
| VR62516 | - 40 μ A | 15,6 | 0,1 | 0,64 | 99,36 | 21,8 | 218,00 | 18,64092 | 0,93 |
| VR626_8 | - 40 μ A | 9,8 | 0 | 0,00 | 100,00 | 20,7 | 20,70 | -12,16 | 0,94 |
| VR61423 | - 50 μ A | 9,2 | 1 | 10,87 | 89,13 | 12,5 | 12,50 | 141,02692 | 0,92 |
| VR61532 | - 50 μ A | 12,3 | 2,3 | 18,70 | 81,30 | 16,4 | 7,13 | -314,6901 | 0,90 |
| VR62230 | - 50 μ A | 5 | 0,2 | 4,00 | 96,00 | 4,2 | 21,00 | 493,23387 | 0,57 |
| VR62425 | - 50 μ A | 15,3 | 0,2 | 1,31 | 98,69 | 24 | 120,00 | 23,53054 | 0,95 |
| VR62521 | - 50 μ A | 10,4 | 0 | 0,00 | 100,00 | 21 | 21,00 | -87,19 | 0,95 |
| VR61013 | - 60 μ A | 10,4 | 1 | 9,62 | 90,38 | 15 | 15,00 | 36,40591 | 0,91 |
| VR61434 | - 60 μ A | 6 | 0 | 0,00 | 100,00 | 9,5 | 9,50 | -171,929 | 0,86 |
| VR619_7 | - 60 μ A | 4 | 1 | 25,00 | 75,00 | 6,4 | 6,40 | -61,11261 | 0,70 |
| VR620_6 | - 60 μ A | 5 | 3 | 60,00 | 40,00 | 5,4 | 1,80 | 1038,8553 | 0,83 |
| VR62022 | - 60 μ A | 7 | 0,9 | 12,86 | 87,14 | 8,5 | 9,44 | 0 | 0,00 |
| VR62238 | - 60 μ A | 4 | 0 | 0,00 | 100,00 | 7 | 7,00 | -328,55 | 0,82 |
| VR62328 | - 60 μ A | 2,5 | 0 | 0,00 | 100,00 | 3,2 | 3,20 | -242,19 | 0,76 |
| VR624_5 | - 60 μ A | 21 | 1 | 4,76 | 95,24 | 32 | 32,00 | 29,98645 | 0,97 |
| VR625_7 | - 60 μ A | 14,3 | 0 | 0,00 | 100,00 | 23 | 23,00 | 43,39 | 0,96 |
| VR61015 | - 70 μ A | 8 | 1 | 12,50 | 87,50 | 11 | 11,00 | 509,45 | 0,81 |
| VR62020 | - 70 μ A | 6 | 1 | 16,67 | 83,33 | 6 | 6,00 | 123,19619 | 0,81 |
| VR62251 | - 70 μ A | 2 | 0 | 0,00 | 100,00 | 4,5 | 4,50 | -272,65 | 0,64 |
| VR62428 | - 70 μ A | 17,5 | 0,2 | 1,14 | 98,86 | 31 | 155,00 | 90,52729 | 0,96 |
| VR62524 | - 70 μ A | 10 | 0 | 0,00 | 100,00 | 22,4 | 22,40 | -192,85 | 0,88 |
| VR62612 | - 70 μ A | 11,8 | 0 | 0,00 | 100,00 | 39,2 | 39,20 | -16,74 | 0,95 |
| VR61018 | - 80 μ A | 8 | 0,2 | 2,50 | 97,50 | 12,3 | 61,50 | -403,257 | 0,65 |
| VR61620 | - 80 μ A | 4,5 | 0,18 | 4,00 | 96,00 | 5 | 27,78 | 1825,16 | 0,69 |
| VR62227 | - 80 μ A | 2 | 0 | 0,00 | 100,00 | 5 | 5,00 | -2,23 | 0,42 |
| VR62332 | - 80 μ A | 3,7 | 0 | 0,00 | 100,00 | 4 | 4,00 | 546,36 | 0,90 |
| VR624_3 | - 80 μ A | 19,2 | 0,1 | 0,52 | 99,48 | 30 | 300,00 | -119,48 | 0,97 |
| VR625_5 | - 80 μ A | 13 | 0,1 | 0,77 | 99,23 | 27,4 | 274,00 | 45,03 | 0,97 |
| VR62614 | - 80 μ A | 11 | 0 | 0,00 | 100,00 | 43,5 | 43,50 | -23,24 | 0,94 |
| VR61022 | - 90 μ A | 3 | 0 | 0,00 | 100,00 | 10 | 10,00 | 40,29948 | 0,76 |
| VR62018 | - 90 μ A | 6,3 | 0,25 | 3,97 | 96,03 | 7 | 28,00 | 28,92855 | 0,88 |
| VR62244 | - 90 μ A | 3,6 | 0 | 0,00 | 100,00 | 7,5 | 7,50 | 30,99 | 0,77 |
| VR62247 | - 90 μ A | 3 | 0 | 0,00 | 100,00 | 8,4 | 8,40 | 19,86 | 0,83 |
| VR62411 | - 90 μ A | 31 | 1,2 | 3,87 | 96,13 | 41,6 | 34,67 | 28,52 | 0,97 |
| VR62513 | - 90 μ A | 14,7 | 0 | 0,00 | 100,00 | 32,2 | 32,20 | 29,08 | 0,96 |
| VR62618 | - 90 μ A | 9 | 0 | 0,00 | 100,00 | 48,3 | 48,30 | -61,27 | 0,90 |

8. DISCUSIÓN

Desde los trabajos descritos por Golberg *et al.* (1982), se ha reportado una respuesta del nervio aferente vestibular ante la estimulación galvánica es decir una activación de las aferentes vestibulares ante pulsos de corriente continua. A pesar del conjunto de estudios que se han realizado con EGV, aún no se ha determinado el nivel al que actúa la señal eléctrica entrante. Se han descrito las propiedades electrofisiológicas de las aferentes vestibulares en distintas condiciones para obtener mayor información sobre la forma en que integran las señales entrantes. En este caso se caracterizó la respuesta del nervio aferente vestibular ante un estímulo eléctrico. Para esto, primero se determinó a qué amplitudes respondía. Se obtuvo un rango de -90 a 90 μA . Las unidades de los valores de corriente inyectada son las mismas que utilizaron Kim y Curthoys (2004) para determinar el umbral de activación de las neuronas en conejillos de indias mediante la EGV, reportando en algunos casos valores muy pequeños desde 5 μA . En este caso, el valor mínimo aplicado fue de 10 μA , porque en este se encontró el umbral de respuesta.

Al comparar la actividad de reposo y la respuesta al pulso eléctrico se nota una clara diferencia al inicio del pulso y durante el pulso, así como distintas respuestas dependiendo de la polaridad del estímulo aplicado. La primera respuesta observada fue con el protocolo de estimulación con polaridad normal, en donde al inicio del estímulo se ve un pico de respuesta, en este caso excitatorio, que decae de manera exponencial. Durante el pulso la actividad estable parece volver a su estado basal, sin embargo al comparar los respectivos promedios hay una disminución en esta actividad. La segunda respuesta observada fue con el protocolo de estimulación con polaridad invertida. En este caso la actividad al inicio del pulso disminuye (pico de respuesta inhibitorio). Posteriormente, durante el pulso, la actividad en estado estable aumenta comparada con la actividad control. La explicación más general a estas respuestas es que se deban a que un estímulo funciona como anódico y otros como catódico sobre el mecanismo generador de espigas en las neuronas aferentes vestibulares (Budelli y cols., 1986), aunque pudiera también ser debido a la polarización funcional de las células ciliadas. Es decir que el estímulo eléctrico influye en la recepción del estímulo, por lo que estaría actuando sobre

el mecanismo de mecanotransducción o de generación del potencial receptor a nivel del epitelio sensorial y por eso presentar una respuesta dual. Al ser continuo el pulso, las propiedades eléctricas pasivas de las células ciliadas impiden la saturación explicando el decaimiento o elevación exponencial de las respuestas. Es decir, posiblemente este estímulo eléctrico actúa a nivel de mecanotransducción, e influye en la dinámica de la célula ciliada. Considerando que los receptores NMDA participan tanto en la descarga basal así como en las respuestas tónicas y de larga duración, mientras que los receptores AMPA y Kainato, se han relacionado principalmente con respuestas fásicas y de corta duración, el estímulo eléctrico aplicado en este trabajo podría estar activando este último tipo de receptores presentes en las neuronas aferentes vestibulares. Aunque el tipo de respuesta depende de la integración de otros receptores que puedan estar participando a este nivel además de la dinámica de las células ciliadas.

Las diferencias en la respuesta según la polaridad no solamente pueden deberse a la polarización de las células ciliadas, las respuestas obtenidas también pueden ser resultado de la actividad dinámica de las aferentes vestibulares primarias. Golberg *et al.* (1982) describió la respuesta de las aferentes del nervio vestibular en el mono ardilla ante corrientes galvánicas externas, donde expuso dos efectos de la dinámica de respuesta. El primero se lo atribuye al movimiento mecánico de la cúpula-endolinfa, el cual se describe como un progresivo decremento de la ganancia de baja frecuencia y conductor de fase. El segundo efecto se interpretó como la sensibilidad a la velocidad, presentándose como un progresivo aumento de la ganancia de alta frecuencia y conductor de fase. En este caso la señal de entrada ante pulsos negativos provoca una disminución de la frecuencia de disparo solo al inicio del pulso. Si tomamos en cuenta que es aquí donde se lleva a cabo el movimiento mecánico cúpula-endolinfa (debido a que es la entrada del estímulo) y lo relacionamos al primer efecto observado por Golberg *et al.* 1982, entonces podríamos asumir que la estimulación eléctrica con polaridad invertida utilizada en este trabajo, puede estar influyendo en la ganancia de las aferentes vestibulares provocando la disminución de ésta solo al inicio. Mientras que el aumento de la respuesta durante el pulso negativo (actividad en estado estable) se puede relacionar con el segundo efecto, es decir,

el pulso negativo continuo puede estar actuando sobre la sensibilidad a la velocidad, en este caso la magnitud del pulso eléctrico también podría estar aumentando la ganancia de las aferentes. Ocurriendo posiblemente lo contrario en la respuesta con polaridad normal, sumada a esto el efecto de polarización de las células ciliadas.

Otro aporte importante en este reporte, Golberg *et al.* (1982), fue la sugerencia del lugar donde podía influir la corriente galvánica en la descarga de las aferentes, proponiendo que actúa cerca del punto de disparo post-sináptico, que en el modelo simulador de la función vestibular, de manera análoga, estaría influyendo en la dinámica de la neurona aferente (V_2') después de la transmisión sináptica (I_{syn}) (Alexandrov *et al.*, 2015). También encontraron que las corrientes catódicas constantemente aumentaban la descarga aferente, mientras que las corrientes anódicas siempre las reducían. Esto parece coincidir con las respuestas obtenidas en este trabajo, donde al aplicar el protocolo de estimulación con polaridad invertida, (en el cual la dirección de la corriente era catódica) se presenta un aumento de la actividad en estado estable a pesar de inhibir la actividad al inicio del pulso. En el 2004, Kim y Curthoys también describieron una respuesta similar de las aferentes vestibulares ante la estimulación galvánica. En este caso, encontraron que las aferentes con descarga irregular presentan una respuesta asimétrica, ya que el cambio en la tasa de disparo no sólo fue mayor cuando se aplicaron estímulos de corriente catódica, sino que también aumentó la actividad; mientras que la estimulación anódica la disminuye. Esto complementa a las respuestas observadas en este trabajo, solo que este caso no hay una diferenciación entre la participación del tipo de aferentes, por lo que solo se puede argumentar que probablemente se esté presentando una mayor participación de las aferentes irregulares. Pero para asegurar esta afirmación reportes anteriores ya han establecido que las unidades con descarga irregular son más sensibles al estímulo galvánico (Golberg, 2000).

En varios estudios se ha debatido acerca de la respuesta vestibular ante la estimulación galvánica. Esto surge de pretender discernir a que nivel actúa la EGV, debido a que se han estudiado varias respuestas y reflejos vestibulares, es difícil definir o aislar una sola respuesta. Por ejemplo en el artículo de opinión

de Cohen *et al.* 2012 sostienen que las respuestas vestibulares ante la estimulación galvánica son exclusivamente de tipo otolíticas debido a que ellos se basan en respuestas observadas con humanos sometidos a la EGV, donde describen que experimentan sensaciones de balanceo, inclinación de la cabeza y el cuerpo, características de la activación del sistema otolítico. Si los canales semicirculares estuvieran continuamente estimulados se presentarían sensaciones de giro y el nistagmo ocular. En respuesta a estas observaciones Curthoys *et al.* (2012) cuestiona la manera de evaluar e interpretar los resultados en los que se basa Cohen, y explica como la EGV no solo activa respuestas otolíticas, por lo que fundamenta la participación de los canales semicirculares ante este tipo de estimulación. Un argumento a favor del por qué no se presentan respuestas de los canales semicirculares durante la EGV, es la habituación de ciertas unidades ante un estímulo rotacional, es decir que las aferentes que responden a aceleraciones angulares se habitúan rápidamente, mientras que las unidades aparentemente de los órganos otolíticos continúan disparando en respuesta a la EGV y por eso se observan respuestas otolíticas persistentes, excluyendo también la inhibición integral por parte de los núcleos vestibulares (Cohen *et al.* 2012).

Basándonos en que las aferentes vestibulares primarias que participan en la respuesta de los canales semicirculares presentan una habituación rápida ante la estimulación galvánica, y que en este proceso se ve involucrado el sistema vestibular central, las respuestas observadas en este trabajo se aíslan de una posible adaptación integral. Por esta razón la adaptación de la respuesta ante los estímulos eléctricos queda demostrado en nuestro trabajo que es de origen periférico, debido a que se elimina la participación central, por lo tanto la adaptación de la respuesta a nivel periférico no depende de la amplitud del pulso, solo de la dirección de la corriente.

Para definir la relación estímulo-respuesta del nervio aferente vestibular ante un pulso eléctrico se utilizó el índice de cambio y los valores de corriente aplicados. Algo similar realizó Kim y Curthoys en el 2004 donde describieron una correlación entre los cambios de la tasa de disparo de las aferentes vestibulares del conejillo de indias ante la intensidad de un estímulo galvánico. Ellos encontraron una relación lineal de la sensibilidad de las aferentes vestibulares

primarias a la estimulación galvánica. Hay que considerar que para sus resultados se evaluó la respuesta total de todo el sistema vestibular tanto central como periférico y debido a que el tipo de registro utilizado involucra otros factores que influyen en dicha respuesta, tales como el tipo de estimulación, la colocación de los electrodos, así como el empleo de un sistema completo, difiere de la relación estímulo-respuesta encontrada en este trabajo. La relación en este caso tuvo un comportamiento sigmoideo y se hace la observación de que la respuesta del nervio vestibular fue aislada de otros sistemas que pudieran influir en esta, tal como el sistema central, aparte de otras condiciones distintas a las utilizadas por Kim y Curthoys. De acuerdo a esto, lo obtenido puede definirse como una respuesta más específica debido a que se elimina la modulación o participación de otras señales que pudieran ser entrantes.

9. CONCLUSIÓN

El nervio aferente en la preparación del vestíbulo aislado en rata responde ante pulsos de corriente continua (duración de 10 seg) en un rango de -90 a 90 μA . La dirección de la corriente influye en la modulación (positiva o negativa) de la respuesta del nervio ante un estímulo eléctrico. Es decir, en pulsos con dirección anódica se presenta un pico de respuesta excitatorio que decae exponencialmente reponiéndose la actividad, mientras que en pulsos con dirección catódica el pico es inhibitorio mejorando la respuesta en estado estable.

En todas las respuestas observadas, la respuesta al pico del nervio aferente vestibular depende de la amplitud del estímulo eléctrico. Sin embargo, la respuesta en estado estable no depende de la amplitud del estímulo, aunque sí de la dirección de la corriente.

PERSPECTIVAS

Para saber ¿A qué nivel actúa el estímulo eléctrico en el sistema vestibular (en la preparación del vestíbulo aislado)? Es necesario:

- Antagonistas o bloqueadores de la sinapsis entre células ciliadas de la cresta ampular y las aferentes primarias.
- Se ha visto que la alta concentración de Magnesio y baja de Calcio en la preparación del vestíbulo aislado disminuye la actividad basal de las aferentes vestibular, así como la actividad de disparo durante un estímulo mecánico. Por lo que sería interesante observar cómo responde el nervio ante bajas concentraciones de Calcio y alta de Magnesio y la aplicación de un pulso eléctrico.
- Combinar respuestas ante un estímulo mecánico.

10. BIBLIOGRAFÍA

Alexandrov, V., Alexandrova, T., Vega, R., Castillo, G., Ángeles, A., Reyes, M. & Soto, E. (2007). Information Process in Vestibular System. WSEAS Transactions on Biology and Biomedicine, 4 (12), 193-203).

Aleksandrov V., Reyes M., Alexandrova T., Soto E., Vega R., Pliego A., Guerrero W. (2015). Diseño de una Prótesis Vestibular. Centro Mexicano Universitario.

Budelli, W. Soto, E, González Estrada, M.T. and Macadar, O. (1986) A spike generator mechanism model simulates utricular afferents response to sinusoidal vibrations. Biological Cybernetics 54, 237-244.

Cohen, B., Yakushin, S., and Holstein, G.R. (2012) What does galvanic vestibular stimulation actually activate? Front. Neur. 2:90.

Cullen, K. (2012). The vestibular system: multimodal integration and encoding of self-motion for motor control. Trends in Neurosciences, 35, 185-196.

Curthoys, I.S. (1979). The development of function of horizontal semicircular canal primary neurons in the rat. Brain Research. 167, 41-52.

Curthoys IS y MacDougall HG (2012) What galvanic vestibular stimulation actually activates. Frontiers in Neurology 3_117, 1-5.

Fernández, J.A.F. (2005). Sistema Vestibular. En Fisiología Humana (229-240). Madrid: McGraw-Hill Interamericana.

Fitzpatrick R. C., Day B. L. (2004) Probing the human vestibular system with galvanic stimulation. J Appl. Physiol. 96, 2301-2316

Flores Urbina, A., Galicia Isasmendi, S., Gómez Rivera, G.O. (2001). El sistema vestibular: aspectos generales y neurodesarrollo. *Temas selectos de Neurociencias II*. Ed. Javier Velásquez Moctezuma. UAM-PUIS.

Flores A., Soto E., Vega R. (2001) Nitric oxide in the afferent synaptic transmission of the vestibular system. *Neuroscience* 103, 459-466

Goldberg JM, Lysakowski A, Fernández C. (1990) Morphophysiological and ultrastructural studies in the mammalian cristae ampullares. *Hear Res.* 49, 89-102.

Gong, W., Haburcakova, C., & Merfeld, D. (2008) Vestibulo-Ocular Responses Evoked Via Bilateral Electrical Stimulation of the Lateral Semicircular Canals. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 55, (pp. 2608-2619).

Golberg, J. M. (2000) Afferent diversity and the organization of central vestibular pathways. *Exp Brain Res*, 130, 277-297.

Guyton, A. & Hall, J. (2001) Control de la función motora por la corteza y el tronco encefálico. En *Tratado de Fisiología Médica*. México: McGraw-Hill. 774-778.

Kim J and Curthoys IS (2004) Responses of primary vestibular neurons to galvanic vestibular stimulation (GVS) in the anaesthetized guinea pig. *Brain Research Bulletin* 64_3, 265–271

Lewis, R., Haburcakova, C., Gong, W., Lee, D., & Merfeld, D. (2013) Electrical stimulation of semicircular canal afferents affects the perception of head orientation. *J Neurosci*, 33, 9530-9535.

Romand R., Varela-Nieto I. (2003) Functional Development of Hair Cells. En *Development of auditory and vestibular systems-3 Molecular Development of the inner ear*. Elsevier. 389-399.

Ortega Ramírez, A.M. (2009) El rectificador retardado de bajo umbral de las células ciliadas tipo I del ámpula vestibular de la rata, es modulado por la

concentración extracelular de protones (Tesis de Licenciatura en Biomedicina). Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Pineda Sánchez L.G. (2014) Efecto de la serotonina (5-HT) sobre la actividad eléctrica basal de las neuronas aferentes del nervio vestibular de mamífero. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias, Universidad de Tolima.

Soto, E. & Vega, R. (1987) Turbo Pascal program for on line spike data acquisition and analysis. *Journal of Neuroscience Methods*, 19, 61-68.

Soto, E. y Vega, R. (1988) Actions of excitatory amino acid agonists and antagonists on the primary afferents of the vestibular system of the axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Brain Research* 462, 104-111.

Soto, E., Flores, A., Eróstegui, C. & Vega, R. (1994). Evidence for NMDA receptor in the afferent synaptic transmission of the vestibular system. *Brain Research*, 633, 289-296.

Soto, E., Budelli, R. y Holmgren, B. Sistema Vestibular. En *Fisiología. Células órganos y sistemas*. Volúmen V. J. Muñoz y X. García (eds.) Fondo de Cultura Económica, México 1998, pp 173-183. ISBN: 9681654080

Soto, E. & Vega, R. (2009) FARMACOLOGÍA DEL SISTEMA VESTIBULAR. En *ENFERMEDAD DE MÉNIÈRE: DESDE LAS CIENCIAS BÁSICAS HACIA LA MEDICINA CLÍNICA*. Badalona: Schering-Plough. 37-57.

Soto E, Lima J, Luis E, Vega R. (2016) Modulation of vestibular afferent neuron ionic currents by serotonin. *Society for Neuroscience Abstracts*. 46; P.

Vega R, Soto E. (2003) Opioid peptide receptors mediate an inhibitory presynaptic and excitatory postsynaptic input to the vestibular afferent neurons. *Neuroscience* 118(1), 75-85.

Utz, K.S., Dimova, V., Oppenlander, K., & Kerkhoff, G. (2010) Electrified minds: Transcranial direct current stimulation (tDCS) and Galvanic Vestibular Stimulation (GVS) as methods of non-invasive brain stimulation in neuropsychology- A review of current data and future implications. *Neuropsychologia*, 48, 2789-2810.