



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Instituto de Fisiología

Laboratorio de Neurofisiología Integrativa

**Efectos de la estimulación “tetánica” de la corteza de los barriles
con ruido eléctrico aleatorio sobre la amplitud de potenciales
provocados somatosensoriales**

Tesis para obtener el grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Presenta:

Ing. Comp. Linda Victoria Lizárraga Cortés

217472200

Director de Tesis:

Dr. Elías Manjarrez López

Comité tutorial:

Dr. José Ramón Eguibar Cuenca

Dr. Emilio Salceda Ruanova

Marzo 2020

Agradecimientos

Primero que nada, gracias a mi madre por apoyarme incondicionalmente y que, con su disciplina y dedicación en el trabajo, me inspiran a crecer profesionalmente. A mi tía Tulia, a mis hermanos, a mis primas, a mis tíos, a mis abuelos y a mis amigos, por confiar en mí siempre y darme el empuje necesario para continuar mis sueños.

A mi asesor de tesis, Dr. Elias Manjarrez, gracias por permitirme ser parte del laboratorio de Neurofisiología Integrativa. Las palabras no bastan para agradecer la paciencia y el apoyo que me brindó durante estos años como su alumna de maestría. Llevo conmigo cada consejo y conocimiento compartido, que permite con su ejemplo, el crecimiento en mi formación científica y como persona. Regresaré con creces, a usted y al laboratorio, todo lo que se me ha otorgado.

A mis compañeros de laboratorio: Roberto, Manu, Ger, Pedro, Héctor, Jorge, Ángel, Iván, Diana y Felipe, gracias por el apoyo durante experimentos y los momentos divertidos. A Naye y Anaí, gracias por sus pláticas y consejos, su entrega y pasión por la ciencia. A Mayra y Abraham, extrañaré sus discusiones, juegos y compañía sentados a mi lado.

A mis compañeros de generación y clases: Aurelio, Sandra, Jhoana, Kenia, Gil, Pedro, Carlos, Alma, Abraham, Mayra y Vicki. Son uno de los mejores grupos con los que tuve la oportunidad de tomar clases, compartir ideas y momentos. Extrañaré siempre nuestros desayunos después de clase.

A los doctores investigadores de los cuales tuve el privilegio de recibir cátedras y/o que me brindaron su ayuda en mi formación: Al Dr. Ramón Eguibar y al Dr. Emilio Salceda por ser mis revisores; a la Dra. Amira Flores, Dr. Fabián Galindo, Dr. Eduardo Monjaraz, Dr. Alejandro Moyaho, Dr. Jorge Flores, Dra. Ma. Rosa Padrós, Dr. Jesús Tapia, Dr. Antonio Flores, Dra. Ma. de Jesús Gómez, Dr. Gonzalo Flores, Dr. Carlos Trenado y a la Dra. Diane Ruge; su dedicación hacia la ciencia y vasto conocimiento dejaron en mí una impresión de por vida.

Tuve la fortuna de conocerlos a todos ustedes. Gracias por su paciencia, comprensión, apoyo, consejos, pláticas, opiniones, conocimientos, discusiones, compañerismo y amistad; por animarme a seguir adelante por todos los traspies que atravesé en este tiempo. No solo estuvieron ahí cuando di lo mejor de mí, sino también cuando pensé que no podría seguir. De corazón, muchas gracias.

Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo otorgado para la realización de mis estudios de maestría en Ciencias Fisiológicas, dentro del Programa Nacional de Posgrados de Calidad, número 732228/622464. Además del apoyo otorgado durante la estancia de investigación en TECHNISCHE UNIVERSITÄT DORTMUND, Alemania dentro del Programa de Becas de Movilidad 2018 en el extranjero, número 732228/291250.

A la Dirección General de Desarrollo Internacional por el apoyo otorgado durante la estancia de investigación en TECHNISCHE UNIVERSITÄT DORTMUND, Alemania, dentro del Programa de Apoyos Complementarios para la Movilidad Internacional Nivel Posgrado (obtención de créditos o Estancias de Investigación).

Al IfADo (Leibniz Research Center for Working Environments and Human Factors) por el apoyo de hospedaje otorgado durante la estancia de investigación en TECHNISCHE UNIVERSITÄT DORTMUND, Alemania, bajo la tutela de la Dra. Diane Ruge, encargada del departamento del Junior Group Translational Neuromodulation.

A la Vicerrectoría de Investigación de Estudios de Posgrado por el apoyo otorgado para la conclusión de esta tesis dentro del “Programa IV. Investigación y Posgrado. Apoyar a los programas de posgrado para logra su incorporación al Padrón Nacional de Calidad. Indicador establecido en el Plan de Desarrollo institucional 2017-2021”.

Dedicatoria

A todas las personas que de todos los tiempos y de todos los lugares, tuve la oportunidad de compartir este momento ustedes. Los estimo por haber sido y por seguir siendo parte de mi vida.

Índice

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. EETCA Y EETRA.....	4
1.1.1. <i>Estimulación eléctrica transcraneal con corriente alterna</i>	5
1.1.2. ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA TRANSCRANEAL CON RUIDO ALEATORIO ..	6
1.1.2.1. <i>Excitabilidad de la corteza motora</i>	7
1.1.2.2. <i>Excitabilidad de la corteza somatosensorial</i>	9
1.1.2.2.1. <i>Percepción de frecuencias vibrotáctiles</i>	9
1.2. SISTEMA SOMATOSENSORIAL EN LA RATA.....	10
1.2.1. <i>Vibrisas y folículos</i>	10
1.2.2. <i>Ganglio trigeminal</i>	13
1.2.3. <i>Complejo trigeminal del tronco encefálico</i>	13
1.2.4. <i>Tálamo</i>	14
1.2.5. <i>Corteza de los barriles</i>	17
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	23
3. HIPÓTESIS	26
4. OBJETIVOS	27
4.1. OBJETIVO GENERAL	27
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
5. METODOLOGÍA	28
5.1. CONDICIONES DE EXPERIMENTACIÓN.....	28
5.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS SUJETOS EXPERIMENTALES.....	28
5.3. ANESTESIA.....	28
5.4. PREPARACIÓN QUIRÚRGICA	29
5.5. MONTAJE EXPERIMENTAL	29
5.6 CARACTERÍSTICAS DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA Y MECÁNICA TETÁNICA	29
5.7. MÉTODO DE REGISTRO.....	30
5.8. MÉTODO DE EUTANASIA	31
5.9 ANÁLISIS DE DATOS.....	31
5.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	32
7. DISCUSIÓN	50
7.1. EXCITABILIDAD EN LA CORTEZA AUDITIVA	55

7.2. EXCITABILIDAD EN LA CORTEZA VISUAL	56
7.3. FUNCIONES COGNITIVAS.....	56
7.4. EN PSIQUIATRÍA Y OTRAS APLICACIONES.	57
7.5. VENTAJAS DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA	57
8. CONCLUSIÓN	59
9. BIBLIOGRAFÍA.....	60
APÉNDICE	65

Resumen

En el 2008, Terney y colaboradores describieron que la estimulación eléctrica con ruido aleatorio (EERA) de alta frecuencia (tetánica) durante 10 minutos, sobre el cuero cabelludo cercano a la corteza motora, produce un aumento en la amplitud de los potenciales provocados motores. Dichos potenciales, se mantuvieron amplificados hasta por una hora. Este hallazgo en el sistema motriz, abre la pregunta obligada, de si este mismo fenómeno ocurre en el sistema somatosensorial, y de si es posible obtener un modelo animal para su estudio. Por lo que, en la presente tesis, se caracterizaron los cambios en la amplitud de los potenciales provocados somatosensoriales después de la aplicación de EERA tetánica directamente sobre la corteza de los barriles de la rata. Los potenciales provocados somatosensoriales se obtuvieron mediante la estimulación mecánica de las vibrisas de la rata. Se encontró que la EERA aplicada sobre la corteza de los barriles, produce un incremento significativo de tipo potenciación similar al reportado en el sistema motriz en humanos, y en algunos casos de una duración de hasta 5 horas. Este resultado es importante, porque se obtuvo un modelo animal para explorar mecanismos fisiológicos de incremento en la excitabilidad sensorial asociados a la EERA aplicada a la corteza cerebral. Cabe mencionar que aún no hay trabajos en la literatura que usen modelos animales para caracterizar éste fenómeno de incremento en la excitabilidad cerebral. Sin duda, los resultados obtenidos serán de interés para la interpretación del uso de la EERA de tipo tetánico en la clínica médica y para más avances en el estudio de mecanismos fisiológicos.

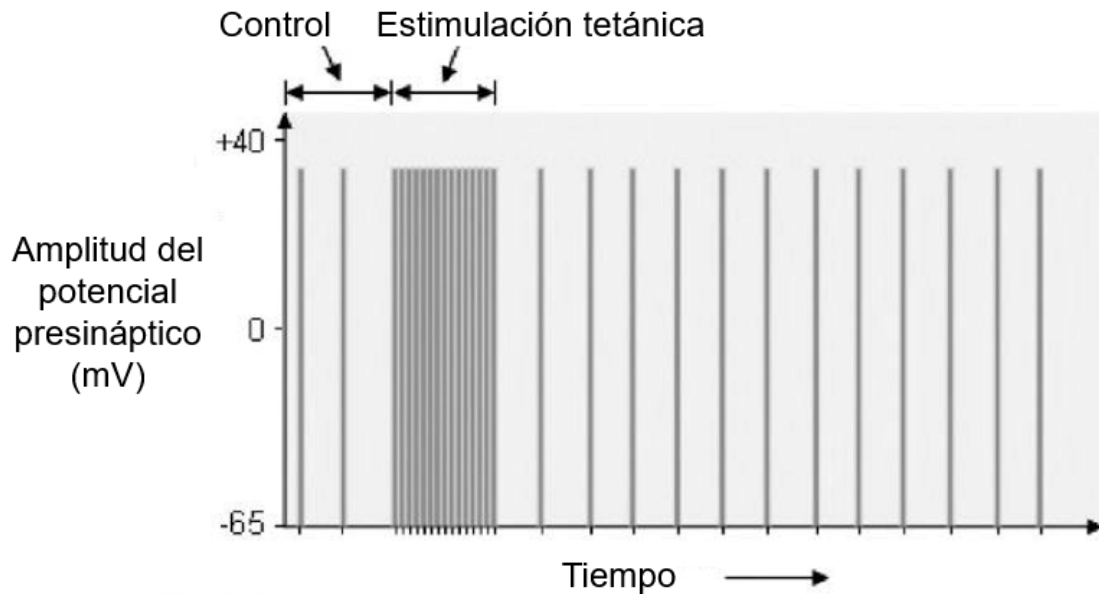
1. Introducción

El origen histórico del uso de la estimulación eléctrica transcraneal (**EET**) en terapias en el humano, nace del descubrimiento de la electricidad misma. Con el desarrollo de dispositivos de estimulación eléctrica hechos por el hombre, los estudios en el siglo XIX y XX implementaron el uso de corrientes galvánicas en el tratamiento de desórdenes psiquiátricos.

En los últimos 30 años, la estimulación cerebral no invasiva (**ECNI**) ha sido uno de los métodos mayormente utilizados. El objetivo de la aplicación de la ECNI es el de establecer el rol de cierta área cortical en un proceso que se lleva a cabo, ya sea motor, perceptual o cognitivo. La ECNI produce efectos de tipo neuroplásticos en la corteza humana, lo que lleva a la modificación dependiente de la actividad de la transmisión sináptica (Kadosh, 2014).

La **neuroplasticidad** es un proceso continuo, adaptativo y que se auto organiza ampliamente en las áreas corticales (Zilles,1992). Ello permite al cerebro aprender y adaptarse a nuevas situaciones ambientales. En la **plasticidad sináptica**, la activación sináptica continua llega a producir un aumento de la fuerza de las conexiones sinápticas. Un ejemplo de ello, es la **estimulación tetánica**, donde al estimular una neurona presináptica a alta frecuencia se obtiene un aumento de amplitud de los potenciales postsinápticos (**potenciación tetánica**) y una amplitud persistente durante un corto periodo de tiempo (**potenciación posttetánica**) (**Figura 1**) (Ripoll,2010).

Neurona presináptica



Neurona postsináptica

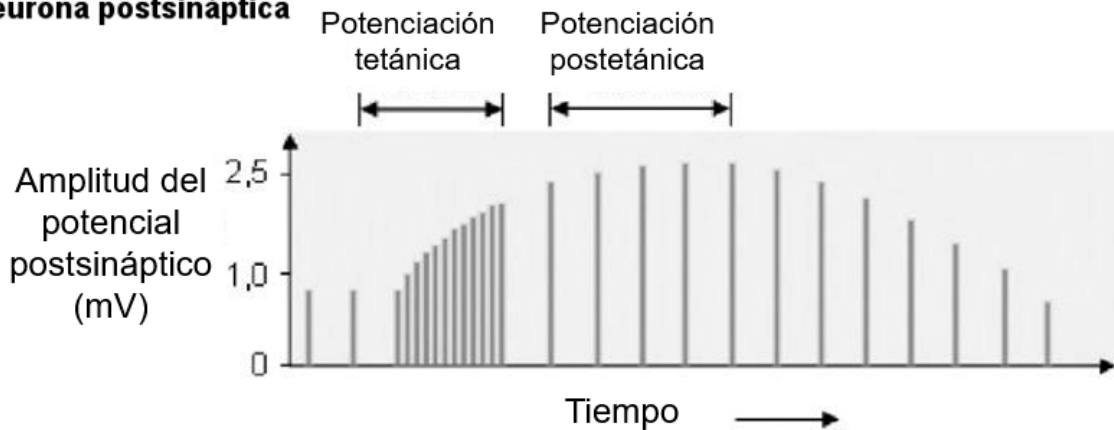


Figura 1. La estimulación a altas frecuencias de las neuronas presinápticas producen un aumento en la amplitud de los potenciales postsinápticos durante un corto periodo de tiempo . Modificada de Ripoll, (2010).

En las técnicas de EET, la estimulación involucra la aplicación de corrientes eléctricas de baja intensidad directamente al cuero cabelludo, a través de un par de electrodos (Nitsche y Paulus, 2000). Como resultado, la EET induce una polarización subumbral de las neuronas corticales que es muy débil para generar un potencial de

acción. Sin embargo, al cambiar la excitabilidad intrínseca neuronal, la EET puede inducir cambios en el potencial de reposo de la membrana y en la actividad postsináptica de las neuronas corticales. Debido a esto, la tasa de disparos espontáneos neuronales se altera, y con ello modula sus respuestas a señales aferentes, lo que provoca cambios en la eficacia sináptica.

El interés en las intervenciones neuromoduladoras se ha incrementado en años recientes, y se consideran una herramienta prometedora para el manejo de diferentes condiciones, desde enfermedades psiquiátricas hasta el dolor crónico. Estudios en ECNI, con corrientes eléctricas de baja intensidad, mostraron un beneficio potencial para la inducción de cambios en la excitabilidad cortical y, consecuentemente, en la neuroplasticidad. Los efectos catalizados por estas técnicas parecen depender de los parámetros de la estimulación (intensidad, duración y frecuencia), lo cual explica la variabilidad en los resultados. Por lo que, una mayor investigación es necesaria para un mejor entendimiento de los efectos neurofisiológicos y los mecanismos de la estimulación eléctrica transcraneal.

1.1. EETCA y EETRA

Entre los métodos de EET de baja intensidad principalmente estudiados, y de mayor interés para éste protocolo, se encuentran la estimulación eléctrica transcraneal con corriente alterna (**EETCA**) y la estimulación eléctrica transcraneal con ruido aleatorio (**EETRA**). Ambos métodos son considerados de buena tolerancia (con protocolos bien establecidos), los cuales operan por la influencia de actividad neuronal espontánea y algunas veces no espontánea (en conjunto con

actividades cognitivas), que generan cambios graduales en las redes neuronales.

1.1.1. Estimulación eléctrica transcraneal con corriente alterna

Uno de los métodos de este tipo de estimulación se lleva a cabo por el uso de corrientes alternas con ondas sinusoidales. La estimulación sinusoidal interfiere en las oscilaciones continuas en el cerebro, las cuales muestran una dependencia a la intensidad y rango de frecuencia del estímulo (Antal y Paulus, 2013). La EETCA aplicada a frecuencias del llamado rango de “ondas rápidas” (140 Hz) pueden llegar a interactuar con los ritmos continuos en la corteza (Moliadze y cols., 2010). Dichos autores, incrementaron la excitabilidad cortical al aplicar la EETCA a 1 mA por 10 minutos sobre la corteza motora (**Figura 2**). A altas frecuencias, las neuronas excitatorias se vuelven más sensibles, debido a que requieren de una mayor estimulación para responder a un estímulo comparadas con las neuronas inhibitorias (Moliadze y cols., 2012). Además, las neuronas excitatorias muestran un aumento en su tasa de disparo a frecuencias de 26 y 52 Hz, lo cual sugiere que los estímulos sinusoidales pueden llegar a modular diferencialmente la tasa de disparo endógena de las neuronas a través de las diferentes propiedades de las conductancias de la membrana dependientes del voltaje (Mahmud y Vassanelli, 2016).

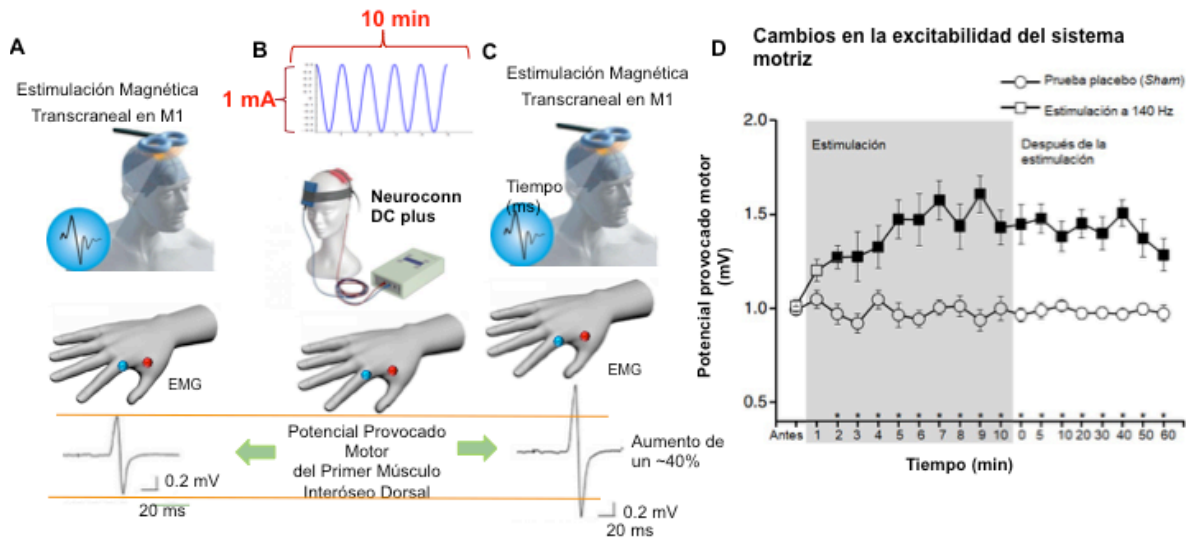


Figura 2. Esquema de la estimulación eléctrica transcraneal con corriente alterna (EETCA) aplicado sobre la corteza motora. La sección D fue modificada de Moliadze y cols. (2010).

El uso de EETCA también ha mostrado que ejerce un efecto sobre la actividad neuronal en la corteza somatosensorial y prefrontal de animales anestesiados (Ozen y cols, 2010). Las frecuencias usadas en el rango experimental fueron de 0.8 a 1.7 Hz, similares a la frecuencia de oscilaciones corticales lentas.

1.1.2. Estimulación eléctrica transcraneal con ruido aleatorio

La EETRA no ha sido extensamente estudiada, sin embargo, sus resultados preliminares resultan prometedores. Terney y cols. (2008) fueron los primeros en implementar esta técnica en humanos. Éstos investigadores usaron una corriente alterna en conjunto con amplitudes y frecuencias aleatorias durante 10 minutos en sujetos sanos. Los resultados mostraron un incremento significativo en la excitabilidad de la corteza motora primaria (M1) que duraba

aproximadamente 60 minutos, no obstante, los efectos de la estimulación estaban limitados a altas frecuencias (**Figura 3**).

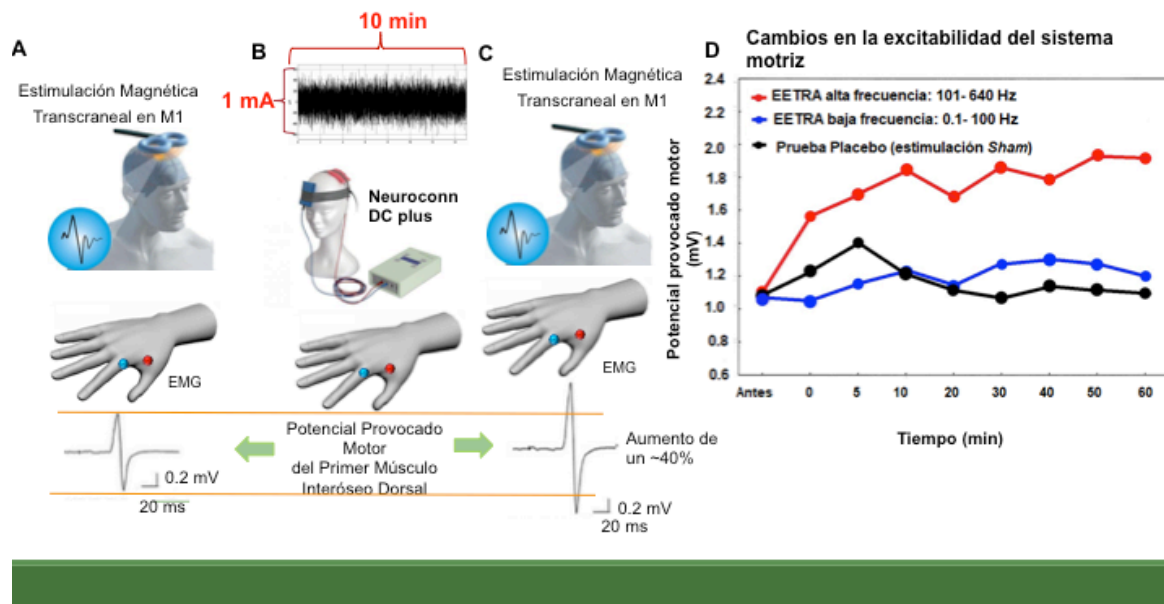


Figura 3. Esquema de la estimulación eléctrica transcraneal con ruido aleatorio (EETRA) sobre la corteza motora, la cual usa la EERA pero aplicada sobre el cuero cabelludo. La sección D fue modificada de Terney y cols. (2008).

1.1.2.1. Excitabilidad de la corteza motora

La excitabilidad del sistema motor puede estudiarse por métodos electrofisiológicos y de imagenología. Un método frecuentemente usado para la medición de la excitabilidad de la corteza motora es el tamaño de los potenciales provocados motrices, los cuales pueden resultar de la aplicación de un estímulo magnético transcraneal subumbral a la corteza motora para provocar potenciales de acción neuronales. A su vez, estos causan potenciales musculares, los cuales pueden registrarse unos milisegundos más tarde con el uso de electrodos electromiográficos de superficie (Hallet, 2007). Terney y cols. (2008) estudiaron los potenciales provocados motrices del primer

músculo interóseo dorsal derecho y sus respuestas (**Figura 4**). Para la frecuencia de estimulación, Moliadze y cols. (2012) encontraron que a 1 mA los efectos de la EERA en la corteza motora es excitatoria, pero a 0.04 mA los efectos son inhibitorios en términos de los potenciales provocados motrices de la mano.

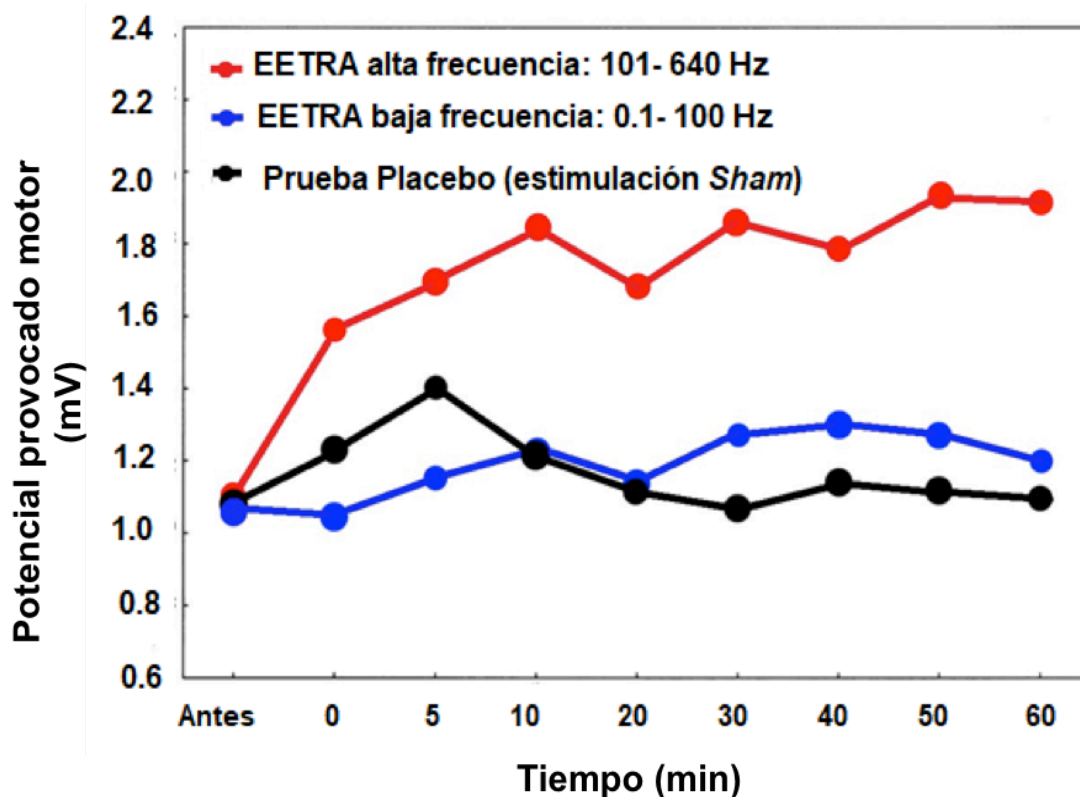


Figura 4. Efectos de baja y alta frecuencia de estimulación de ruido aleatorio en los potenciales provocados motrices. El tiempo de excitabilidad de la corteza durante 60 minutos después de la estimulación de 10 min de EERA de alta frecuencia sobre el cuero cabelludo arriba de M1 a 1 mA, comparado con estímulos de baja frecuencia y en la prueba placebo. Se muestra el promedio de las amplitudes hasta los 60 minutos (n= 12 sujetos). La EERA a alta frecuencia presenta un comportamiento similar a la estimulación tetánica de corto plazo. Modificado de Terney y cols, (2008).

1.1.2.2. Excitabilidad de la corteza somatosensorial

La EET en humanos también puede usarse para modular los circuitos inhibitorios en la corteza somatosensorial primaria, lo que lleva a una mejora en la función sensorial. Sin embargo, la eficacia de dicha estimulación dependerá de la modalidad del estímulo eléctrico (EETCA, EETRA, EETCD). Con la aplicación de EERA (0.1 - 640 Hz) por 10 minutos sobre el cuero cabelludo se obtuvieron mejores resultados en la discriminación táctil comparada con los otros tipos de EET (Saito y cols. ,2019).

1.1.2.2.1. Percepción de frecuencias vibrotáctiles

Las vibraciones de la piel detectadas por los receptores táctiles contribuyen significativamente a la percepción de las propiedades de los objetos durante la exploración táctil y para el control sensorimotor durante la manipulación de objetos (Kandel, 2014). Las vibraciones sostenidas de la piel a bajas frecuencias (5-50 Hz) provocan un sensación táctil distintiva, a la cual se le conoce como “aleteo” (del inglés “*flutter*”) (Mountcastle y cols., 1967), cuya frecuencia puede ser claramente percibida. Esta sensación es mediada por las fibras aferentes primarias y las neuronas de la corteza somatosensorial primaria, cuyas propiedades de adaptación rápida se asocian con los mecanorreceptores de Meissner.

Las mediciones basadas en el promedio de la tasa de disparo de las neuronas en la corteza primaria somatosensorial pueden explicar el desempeño en algunas tareas de discriminación de frecuencia (Salinas y cols, 2000).

1.2. Sistema somatosensorial en la rata

1.2.1. Vibrisas y folículos

Uno de los sistemas somatosensoriales más estudiados en roedores, corresponde a la corteza de los barriles (Adibi, 2019). En dicha corteza, se integran las señales somatosensoriales de los bigotes especializados llamados vibrisas, localizadas a cada lado de la nariz. La principal función de las vibrisas es la de un transductor mecánico, es decir, se encargan de la transferencia de señales táctiles a través de folículos de gran tamaño que contienen densas terminales nerviosas y receptores sensoriales.

Las vibrisas se identifican por una combinación única de letra y número correspondiente a su fila (A-E, de dorsal a ventral) y arco (1-9, caudal a rostral); además, están categorizadas en dos clases: las microvibrisas, pelos cortos y delgados alrededor de la punta de la nariz, y las macrovibrisas, pelos largos y rígidos caudales a las microvibrisas en las almohadillas de los bigotes. Las macrovibrisas consisten en cuatro folículos en filas A y B, siete o nueve folículos en las filas C, D, y E, y cuatro intermedias entre cada fila contigua (α , β , γ y δ), caudales a las almohadillas mistaciales.

Estas dos clases de vibrisas tienen funciones distintas: las microvibrisas, se cree, están involucradas en la adquisición de información táctil detallada para el reconocimiento de objetos y texturas; mientras que las macrovibrisas transmiten información espacial.

Las terminales nerviosas y mecanoreceptores alrededor de las vibrisas son de varios tipos, morfologías y distribuciones; entre ellas se encuentran los complejos de células neuronales de Merkel, los receptores lanceolados, los corpúsculos de Ruffini y las terminaciones nerviosas libres. Los diferentes receptores muestran diferentes propiedades de sintonización y sensibilidad a la variedad de parámetros de estímulos táctiles, tales como amplitud, frecuencia, duración, velocidad, aceleración y dirección de la deflexión o movimiento de las vibrisas. De tal manera que un desplazamiento pequeño de una vibrisa produce una activación de neuronas de la corteza cerebral.

Las respuestas del sistema nervioso a estímulos vibrotáctiles de las vibrisas pueden ser apreciados mediante los potenciales provocados somatosensoriales. Estos potenciales consisten en una serie de ondas que reflejan la activación secuencial de las estructuras neuronales a lo largo de la vía somatosensorial. En cada etapa del procesamiento, es posible identificar mapas topográficos anatómicos y funcionales de las vibrisas. Estos grupos se conocen como “barriletes” en los núcleos del tallo cerebral, “barreloides” en el tálamo y “barriles” en la corteza (**Figura 5A**).

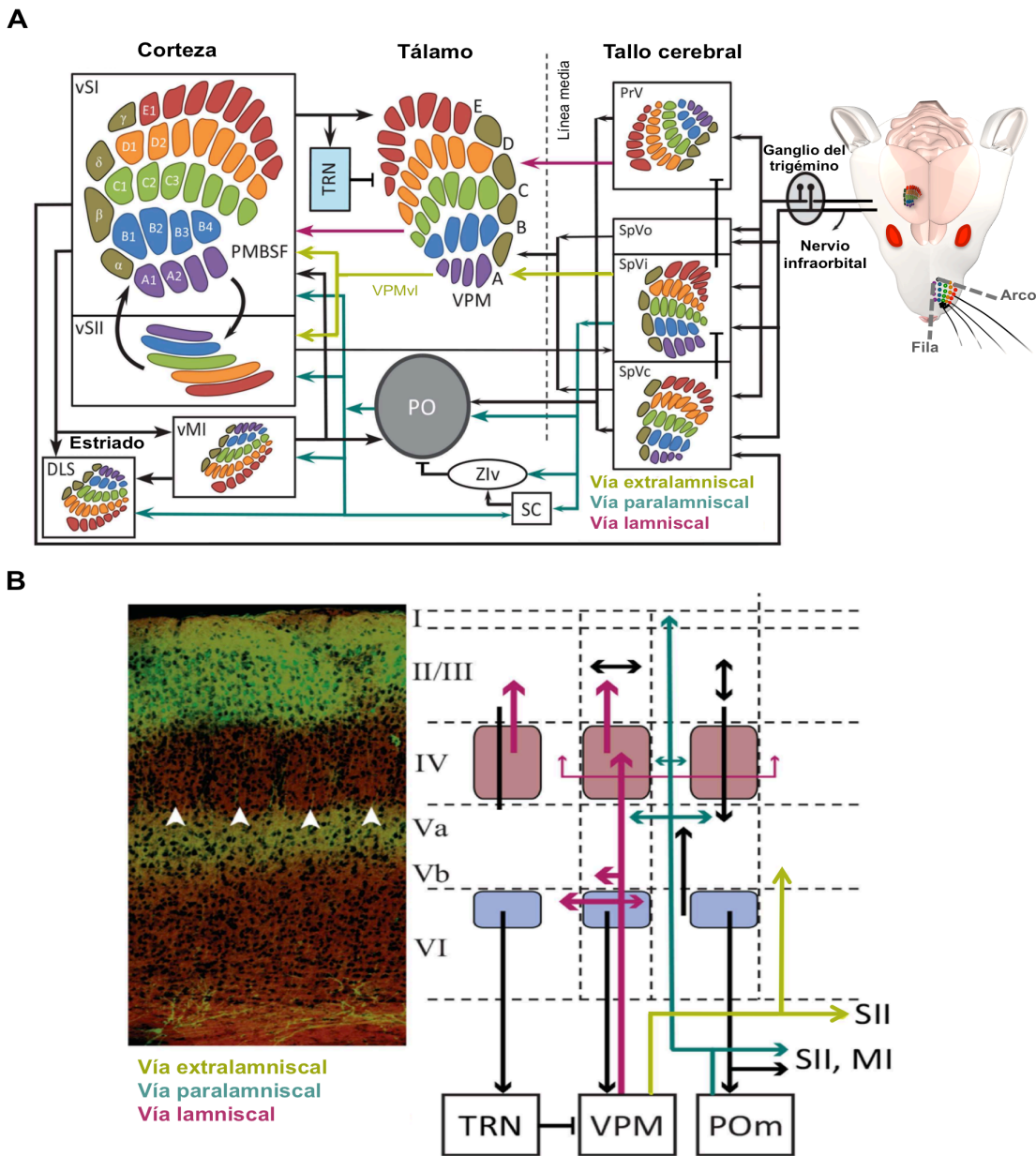


Figura 5. A. Representación esquemática vía somatosensorial de las vibrisas de la rata. **B.** Organización laminar de SI. Sección coronal de SI (derecha), las flechas blancas indican los barriles en la capa IV. Las neuronas excitatorias en las capas II/III (verdes) con sus terminaciones en la capa Va. La vía lamniscal contiene proyecciones glutamatérgicas excitatorias desde VPM hacia la capa IV y escasamente hacia capas Vb y VI (rojo). Los rectángulos rosas representa los barriles y los azules representan los infrabarriles. Modificadas de Adibi, (2019). PMBSF, subcampo posteromedial de barriles; PO, núcleo posterior del tálamo;

PrV, núcleo trigeminal principal; SC, colículos superiores; SpV, núcleo trigeminal espinal; SpVc, parte caudal del núcleo trigeminal espinal; SpVi parte interpolar del núcleo trigeminal espinal; SpVo, parte oral del núcleo trigeminal espinal; TRN, núcleo reticular del tálamo; VPM, núcleo ventral posteromedial; vMI, corteza motora primaria de las vibrisas; vSI, corteza somatosensorial primaria de las vibrisas; vSII, corteza somatosensorial secundaria de las vibrisas; DLS, estriado dorsolateral; Zlv, zona incerta ventral.

1.2.2. Ganglio trigeminal

El ganglio trigeminal consiste en grupos de neuronas pseudo-unipolares con axones proximales que inervan ipsilateralmente el complejo trigeminal del tronco encefálico y axones distales que inervan los folículos de las vibrisas. Cada célula del ganglio inerva únicamente un folículo de las vibrisas. El ganglio trigeminal está somatotópicamente organizado con los arcos caudales representados dorsalmente, y las filas representadas medialmente. Diferentes unidades de ganglio trigeminal tienen varias propiedades de integración y son sensibles a los siguientes parámetros: amplitud, frecuencia, duración, velocidad, aceleración y dirección de desviaciones/movimiento de las vibrisas.

1.2.3. Complejo trigeminal del tronco encefálico.

La recepción sensorial de las vibrisas en el complejo trigeminal del tronco encefálico está subdividida en el núcleo sensorial principal (PrV) y el núcleo espinal (SpV). Este último está además subdividido rostro-caudalmente en tres subnúcleos: oral (SpVo), interpolar (SpVi) y caudal (SpVc). Las neuronas de los núcleos trigeminales reciben señales de entrada del ganglio trigeminal y forman grupos neuronales

agregados discretos llamados “barriletes” en el SpVi y el SpVc; la organización somatotópica se preserva igual que el de las almohadillas mistaciales.

La mayoría de las neuronas de los barriletes proyectan de manera contralateral hacia los “barreloides” del núcleo talámico posteromedial (VPM). Las neuronas en el PrV proyectan hacia múltiples barriletes, principalmente hacia el núcleo talámico posterior(PO), tectum, colículos superiores, zona incerta, a la parte media de los núcleos geniculados mediales (MGm), oliva inferior, y a la parte dorsomedial del VPM(VPMdm). Las neuronas del SpVi proyectan a el complejo ventrobasal (principalmente hacia el VPM ventrolateral, VPMvl), la zona incerta, colículos superiores, MGm, cerebelo y hacia la médula espinal. Tanto SpVC como SpVi proyectan hacia el VPMvl, mientras que el SpVo envía solamente algunos axones hacia el PO.

1.2.4. Tálamo

El VPM, PO y los núcleos talámicos intralaminares forman los objetivos principales de las neuronas de segundo orden del complejo trigeminal del tallo cerebral. El área que representa las vibrisas en el VPM esta organizado somatotópicamente en estructuras discretas, llamadas “barreloides”. Los barreloides son estructuras alargadas con forma de cilindro y su tamaño esta correlacionado con el largo de las vibrisas. La neuronas del PO, muestra una respuesta más débil a la deflexión de una sola vibrisa que las neuronas del VPM, que a diferencia de éstas, las neuronas exhiben una menor preferencia a una vibrisa en específico. En su lugar, las neuronas del PO están

fuertemente impulsadas por el movimiento simultáneo de múltiples vibrisas.

Los barreloides talámicos reciben tres señales de entrada principales:

1. Una entrada excitatoria ascendente del PrV.
2. Una entrada excitatoria cortico-talámica del área de los barriles en la corteza somatosensoria primaria (SI).
3. Una entrada inhibitoria de los núcleos reticulares del tálamo.

Las neuronas aferentes del VPMdm de los barreloides del tálamo convergen principalmente en conjuntos neuronales (barriles) de la capa IV de SI y forman conexiones uno a uno entre los barreloides del VPM y los barriles. El núcleo reticular del tálamo y las partes superiores de la capa VI del área de los barriles están inervados por proyecciones colaterales ascendentes del VPM.

Las neuronas del VPMvl no proyectan directamente hacia los barriles, sino que reciben entradas presinápticas de la división caudal del SpVi y ramifican sus axones en la corteza somatosensorial secundaria (SII), así como a zonas septales y disgranulares en SI, que en conjunto forman la vía extralamniscal. Una vía adicional ascendente paralela a la vía lamniscal se origina de las neuronas del PrV, que a su vez atraviesan la porción anterior de los barreloides del tálamo. Las neuronas en la región anterior de los barreloides tienen campos receptivos de múltiples vibrisas, inervan el septo de la capa IV y reciben retroalimentación de la capa VI de la corteza motriz de las vibrisas. Dicha vía está involucrada en la transmisión de información relacionada con la exploración espacial y de superficie de las vibrisas.

El PO proyecta hacia casi todas las áreas sensorimotoras de la neocorteza (SI, SII, cortezas perihinales, insulares y motoras) y hacia el núcleo reticular del tálamo en una menor extensión. La distribución laminar de los campos terminales de las proyecciones del PO hacia la corteza están principalmente en las capas Va y I. De manera similar, las terminales de los axones del PO en SI están distribuidas desde la capa V superior a la capa I de la zona disgranular y a la pared interbarrilar, así como en las capas V y I de los barriles.

Las neuronas en el núcleo reticular, reciben señales de entrada relacionadas con las vibrisas de neuronas de la capa IV de la corteza somatosensorial, colaterales de las neuronas tálamo-corticales en el VPM y el PO, así como también entradas de neuronas vecinas en el núcleo reticular. A su vez, se envían proyecciones GABAérgicas inhibitorias de vuelta a el núcleo ventrobasal y al PO.

Además del núcleo reticular talámico, un grupo de núcleos talámicos, denominado sistema inhibidor extra-reticular, inerva PO con proyecciones inhibitorias GABAérgicas prominentes. El sistema inhibidor extra-reticular incluye el núcleo pretectal anterior (APT), zona incerta y la división reticular de la sustancia negra. La zona incerta (ZI) y el APT están conectados recíprocamente, ambos proyectan hacia el PO y los centros motrices del tallo cerebral y reciben entradas corticales de la capa V. La ZI recibe entradas directas desde el PrV y del Spvi, además de entradas de SI. La división ventral de la zona incerta (Zlv) recibe las principales señales de entradas desde SpVi y funciona como un relevo de ajuste de inhibición GABAérgica de las neuronas tálamo-corticales en núcleos talámicos de orden superior,

que incluyen las vías paralemniscales y el PO para la actividad motora relacionada a las vibrisas. La activación de la corteza motora de las vibrisas suprime las respuestas en el Zlv, lo cual provee un mecanismo desinhibitorio para las compuertas sensoriales de núcleos talámicos de orden superior durante la actividad motora relacionada a las vibrisas y tacto activo.

1.2.5. Corteza de los barriles

La representación cortical de las vibrisas en los roedores se conoce formalmente como el subcampo posteromedial de barriles (PMBSF). La corteza está organizada en 6 capas (**Figura 5B**). En los roedores, la capa IV de la región de las vibrisas de la SI, conocida como zona granular, contiene grupos anatómicamente distinguibles de neuronas llamadas “barriles”. Cada barril con forma elíptica, es aproximadamente 0.3 - 0.5 en diámetro maximal y contiene un promedio de 2500 neuronas. Los barriles están ordenados somatotópicamente en un orden idéntico al de las vibrisas en el hocico, con la mayoría de las vibrisas posteriodorsales representados por los barriles más posteriolaterales.

En las ratas, hay regiones dispersas entre los barriles llamadas septos. Los septos interbarrilares junto con las regiones que rodean el campo del barril forman la zona disgranular.

Existen dos tipos principales de neuronas en la capa IV de los barriles, neuronas estrelladas espinosas y neuronas piramidales excitatorias, además de interneuronas GABAérgicas. Tanto las

neuronas excitatorias como las inhibitorias reciben entradas directas desde el VPM.

Las neuronas en la capa IV proyectan principalmente hacia la capa II/III supragranular dentro de la misma columna cortical (a lo largo del barril). Las neuronas septales proyectan sobre el septum hacia la capa II/III y hasta cierto punto rodeando gruesamente los barriles adjuntos, además de SII y SI. Algunos axones de la capa IV, también inervan los barriles adjuntos. Las vías de salida de las neuronas de las capas II/III incluyen los barriles adyacentes de la misma capa, las cortezas motoras primaria y secundaria, SII, la zona disgranular, la corteza perrinal de asociación temporal, el estriado dorsolateral y la SI contralateral. La organización de las neuronas a lo largo de los barriles forman una columna de barriles funcionales a través de las capas corticales, las cuales representan principalmente las principales vibrisas de los barriles.

Las aferentes talámicos inervan las neuronas de las capas Vb y VI, al mismo tiempo que las neuronas de la capa IV. Las sinápsis con las neuronas piramidales de la capa V provocan de manera confiable potenciales de acción. Los axones de las neuronas piramidales de la capa V ramifican extensamente dentro de esta capa, con colaterales ascendientes dirigidas hacia las capas supragranulares y colaterales descendientes proyectando hacia la capa VI infragranular.

La capa Va esta poblada predominantemente por neuronas piramidales de mechones delgados, caracterizadas por sus dendritas apicales delgadas, mientras que la capa Vb esta poblada principalmente por neuronas piramidales de mechones gruesos,

caracterizadas por somas con forma de pirámide y las dendritas apicales gruesas, además de las células piramidales sin mechones. Las neuronas piramidales en la capa Va (tanto gruesas como delgadas) pueden funcionar como integradores de las vías lemniscales y paralemniscales del tálamo, a través de conexiones monosinápticas con las neuronas espinales estrelladas de la capa IV. Las neuronas piramidales de mechones gruesas de la capa Vb proyectan hacia los núcleos del mesencéfalo y tálamo, lo cual incluye el PO, ZI y APT. Estas proyecciones mantienen la organización somatotópica más allá de la corteza.

La capa VI es la principal fuente de proyecciones de retroalimentación tálamo-cortical. Las neuronas tálamo-corticales, además de las proyecciones a los núcleos sensoriales talámicos, ramifican tanto neuronas inhibitoras como excitatorias en la capa IV, así como a neuronas piramidales en la capa Va.

Las propiedades de las neuronas de los campos receptivos en los barriles son diferentes en cada capa. Los campos receptivos en general tienen un centro excitatorio y una estructura excitatoria que le rodea; las neuronas corticales responden vigorosamente a la vibrisa principal correspondiente, así como a las vibrisas adyacentes con una respuesta más débil y con retraso. En consistencia con su patrón de conectividad, las neuronas de la capa II/III, muestran un campo receptivo mayor con una respuesta de menor magnitud. La integración sináptica en las neuronas de la capa IV es más compleja, pues estas neuronas reciben entradas de las capas II/III, IV, de otras neuronas

piramidales en las capas infragranulares, así como también una entrada directa talámica substancial.

A través de todas las láminas corticales, aumentar la velocidad o aceleración del estímulo aplicado a las principales vibrisas, aumenta la amplitud de los potenciales postsinápticos excitatorios y una disminución en la latencia de su pico. Los cambios en los potenciales postsinápticos excitatorios están acompañados de un aumento transitorio en la tasa de disparo de las neuronas corticales, seguidas típicamente por una disminución rápida (dentro de 10-20 ms después del inicio de la respuesta) hasta un menor nivel de la tasa de disparo tónica. La respuesta sináptica de neuronas supragranulares (capa II/III) e infragranulares (capas V y VI) tiene un retraso con respecto al de las neuronas granulares (capa IV). El pico de una respuesta disparada por las neuronas de la capa IV esta seguida por una respuesta pico de neuronas infragranulares, para finalmente obtener una respuesta pico de las neuronas de la capa II/III.

Las neuronas de la capa IV exhiben una ventana corta de integración de unos cuantos milisegundos al compararse con otras capas. Esto sugiere que las neuronas de la capa IV funcionan con un detector de coincidencias, mientras que los circuitos supra e infragranulares funcionan como integradores de señal.

Las neuronas de la capa V, se cree funcionan como un integrador de señales de entradas lamniscuales y paralamniscuales, además de señales de entrada de la mayoría o todas las capas corticales. Las capas IV, III y II, al contrario, podrían operar como circuitos

segregadores funcionales que contribuyen a separar el flujo de procesamiento lemniscal y paralemniscal.

La secuencia de la activación cortical a través de las capas es consistente con los registros de potenciales de campo locales intercorticales interlaminares, y el análisis de la fuente de corriente, la cual exhibe unas depresiones de corriente en la capas IV seguido por la activación de las capas II/III y V.

Las proyecciones de retroalimentación de las capas infragranulares hacia los núcleos talámicos sensoriales relacionados a las vibrisas consisten de tres principales rutas:

1. Las neuronas de las secciones superiores de la capa VI de los barriles proyectan exclusivamente hacia su barreloide correspondiente del VPM, lo cual forma una conexión barreloide-barril recíproca.
2. Las neuronas en las secciones inferiores de la capa VI proyectan hacia el PO y una mayor proporción de estos axones también emiten colaterales en el VPM para formar bandas rostro-caudales en forma de barras que representan un arco de la vibrisa.
3. Las proyecciones tálamo-corticales de las células de la capa V terminan exclusivamente en el PO.

Los axones provenientes de la capa VI a lo largo del septo interbarrilar apuntan exclusivamente hacia el PO. Solamente los axones cortico-talámicos de la capa VI y no aquellos de la capa V, emiten vías colaterales hacia y a través de los núcleos reticulares.

La SI proyecta hacia la corteza somatosensorial secundaria, la corteza motora primaria, los núcleos sensoriales del tálamo, colículos superiores y el neostriado dorsolateral. También, la corteza de los barriles en los dos hemisferios están vinculados por conexiones del cuerpo calloso. A su vez, la corteza somatosensorial primaria recibe entradas de la SII y la corteza motora.

2. Planteamiento del problema

Uno de los problemas fundamentales de la neurociencia es conocer los mecanismos fisiológicos de plasticidad de las señales sensoriales. El término de “plasticidad neuronal” fue usado por Santiago Ramón y Cajal (1852-1934) quien describió los cambios no patológicos en la estructura del cerebro humano. En un amplio sentido, la plasticidad del cerebro puede referirse como “la habilidad de hacer cambios adaptativos relacionados a la estructura y función del sistema nervioso” (Zilles, 1992).

Para entender la plasticidad neuronal, es necesario conocer qué es la facilitación sináptica espacial y temporal. Sabemos que un estímulo a un receptor sensorial produce una respuesta sináptica en la neurona de primer orden; sin embargo, dicha respuesta se puede amplificar si otra entrada sináptica actúa de manera convergente sobre dicha neurona de primer orden. Este mecanismo se conoce como “facilitación espacial”. De manera similar, hay otro mecanismo de suma sináptica que se conoce como “facilitación temporal”, en que una entrada sináptica repetitiva sobre una “neurona blanco”, produce un incremento en la señal de salida de dicha neurona. Históricamente, estos mecanismos inspiraron una serie de experimentos, en los que es posible amplificar la respuesta sináptica de una neurona. Por ejemplo, la potenciación post-tetánica, en que la aplicación de un tren de estímulos de alta frecuencia produce una facilitación sostenida de la respuesta post-sináptica. En el caso de la médula espinal, es posible producir una amplificación en la amplitud del reflejo monosináptico después de la aplicación de un tren de estímulos de alta frecuencia.

Este fenómeno de potenciación involucra una acumulación del neurotransmisor en la vecindad de la sinapsis, lo cual lleva a que estímulos sucesivos de baja frecuencia, produzcan una facilitación de grandes magnitudes. De manera análoga, como lo propuso Hebb (1949), es posible potenciar una sinapsis por medio del uso continuo de dicha vía sináptica. Este incremento en el peso sináptico, es una forma de plasticidad neuronal. Pero hay otras formas de producir plasticidad neuronal; por ejemplo, por medio de estimulaciones que produzcan cambios en la excitabilidad de las neuronas involucradas. Tal es el caso de la estimulación eléctrica transcraneal, la cual puede producir un incremento significativo en la excitabilidad de las neuronas después de aplicar un tren tetánico. En el 2008, Terney y cols., mostraron que la EERA en el cuero cabelludo, durante 10 minutos (estimulación tetánica), produce un incremento en la excitabilidad de las neuronas corticales. Estos autores, mostraron un incremento significativo en la amplitud de los potenciales provocados motrices después de 10 minutos de EERA. Sin embargo, aún no se conocen los mecanismos fisiológicos de dicho incremento de excitabilidad, y para ello, puede ser muy útil un modelo animal. En la presente tesis hemos empleado una preparación de rata anestesiada a la que hemos aplicado EERA tetánica directamente en la corteza cerebral con el fin de caracterizar sus efectos sobre la amplitud de las respuestas a estímulos somatosensoriales.

En particular, hemos estimulado con EERA la zona cortical de los barriles, ya que es una región muy bien delimitada, y además, es posible obtener registros de actividad eléctrica muy estables y

reproducibles. La idea de esta tesis fue extender el trabajo de Terney y colaboradores (2008), pero en la corteza somatosensorial de la rata (**Figura 6**). Ello nos permitió examinar los cambios en la amplitud de los potenciales provocados por estiramiento de las vibrisas. Los hallazgos que obtuvimos serán importantes para entender de manera más detallada en experimentos futuros porque la EERA tetánica produce un cambio plástico en la excitabilidad neuronal.

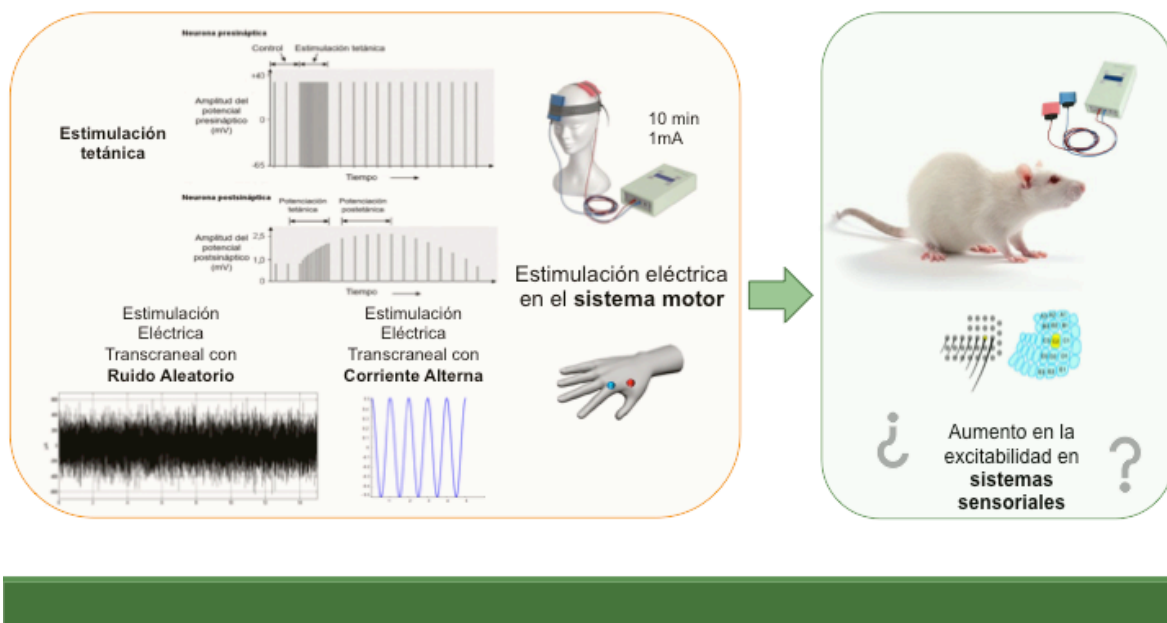


Figura 6. Esquema del planteamiento del problema.

3. Hipótesis

Después de la estimulación eléctrica tetánica ruidosa aleatoria (del tipo EERA) de la corteza de los barriles en la rata, se produce un incremento significativo en la amplitud de los potenciales somatosensoriales provocados por estímulos de protracción de las vibrisas.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Examinar los efectos posteriores a la estimulación tetánica ruidosa aleatoria en la corteza cerebral de los barriles de la rata anestesiada sobre la amplitud de los potenciales provocados por estímulos de protracción de las vibrisas.

4.2. Objetivos específicos

- 1) Obtener registros de la amplitud de potenciales somatosensoriales provocados por estiramientos de diferente intensidad (sub- y supra-umbrales) de las vibrisas de la rata anestesiada.
- 2) Desarrollar un programa computacional para el análisis de curvas entrada-salida de la amplitud de los potenciales provocados obtenidos en el objetivo 1.
- 3) Examinar el efecto posterior a la aplicación de trenes tetánicos de EERA de 10 minutos sobre la corteza de los barriles en la rata sobre la amplitud de potenciales somatosensoriales provocados por estímulos de protracción de las vibrisas para todas las intensidades de estimulación mecánica del objetivo 1 y ventanas de tiempo de observación de mínimo una hora.

5. Metodología

5.1. Condiciones de experimentación

El protocolo de experimentación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Neurofisiología Integrativa del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

El espacio de experimentación fue un laboratorio aislado, en el cual se mantuvo una temperatura ambiente (21°C - 26°C) y con un 50% - 70% de humedad.

Todos los dispositivos y sistemas utilizados fueron conectados a sus tierras correspondientes para evitar interferencia en los registros de la actividad de campo cortical. El sujeto experimental se colocó en un aparato estereotáxico, el cual estuvo sobre una mesa antivibratoria.

5.2. Características de los sujetos experimentales

Para los experimentos se emplearon ratas adultas (300 gr. aproximadamente) sin distinción de sexo, proporcionadas por el Bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Todos los experimentos cumplieron con los lineamientos para el cuidado y uso de animales de laboratorio estipulados en la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999 y aprobados por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (protocolo 4320).

5.3. Anestesia

El sujeto experimental se introdujo a una cámara de inducción, con un orificio por el que ingresó una mezcla gaseosa de oxígeno e isoflurano

(2%) y otro de extracción que se conectó a una “canister” (filtro de carbón activado) para filtrar el excedente de la anestesia.

Después de 8 – 10 minutos, ya que el sujeto experimental se encontraba en un estado de inducción adecuado, se procedió a suministrarle una mezcla de Xilazina (13 mg/kg), Acepromazina (1.5 mg/kg) y Ketamina (65 mg/kg) de manera intraperitoneal. Se corroboró el efecto de la anestesia a través del reflejo palpebral y del reflejo de retirada

5.4. Preparación quirúrgica

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

5.5. Montaje experimental

Se fijó al sujeto experimental en un aparato estereotáxico (Narishige, SE-5), para realizar una craneotomía en la región parietal izquierda o derecha con el fin de descubrir la corteza somatosensorial y registrar la actividad eléctrica neuronal.

5.6 Características de la estimulación eléctrica y mecánica tetánica

El estímulo mecánico tetánico del estiramiento de las vibrisas de la rata se aplicó por medio de un estimulador mecánico Chubbuck. El estiramiento de las vibrisas de la rata consistió en pulsos protráctiles de 5 ms y 1 Hz. Se aplicaron pulsos protáctiles con 1 a 11

intensidades diferentes (de 6 a 7 en la mayoría de los experimentos, de manera repetida). Esto permitió obtener, de manera detallada, los potenciales provocados somatosensoriales y así poder realizar las curvas entrada salida. La estimulación eléctrica tetánica se realizó por 10 minutos a una alta frecuencia (101-640 Hz) con el “Neuroconn DC-Stimulator plus”, con una corriente de 0.3 a 1 mA (**Figura 7**).

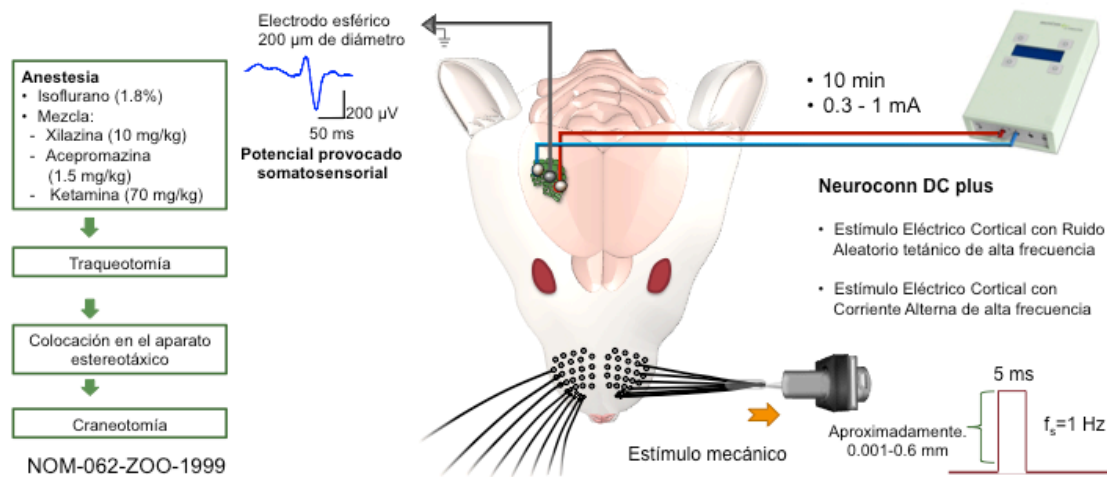


Figura 7. Montaje experimental empleado en la presente tesis.

5.7. Método de registro

Se registraron los potenciales provocados con electrodos de plata clorurada (Ag-Cl, 200 µm de diámetro), los cuales se colocaron sobre la corteza cerebral. Las señales eléctricas se amplificaron con el amplificador Astromed-Grass (filtro pasabanda, 0.05 a 30 Hz) y fueron digitalizadas con un sistema Digidata 1440 (Dispositivos moleculares, Axon Instruments) con una frecuencia de muestreo de 50 kHz.

5.8. Método de eutanasia

Al finalizar cada experimento se realizó la eutanasia del animal de acuerdo a los lineamientos establecidos en la norma mexicana NOM-062-ZOO-1999 de manipulación de animales experimentales de laboratorio. Para ello, hemos empleado una sobredosis del barbitúrico Pentobarbital mientras se registraba la actividad eléctrica cerebral y el examen de los reflejos de retirada. El volumen de sobredosis dependió de estos monitores. Los cuales nos informaron objetivamente el momento en que el cerebro y el corazón dejan de exhibir actividad eléctrica y reflejos. El método de eutanasia se seleccionó de acuerdo a los lineamientos contenidos en la Norma Oficial Mexicana 062 para el cuidado y uso de animales de laboratorio, específicamente en el lineamiento número 9 y tomando en cuenta los agentes permitidos contenidos en el cuadro No. 11. Dicho cuadro menciona que el método recomendado de eutanasia para roedores y otros animales pequeños incluye al uso de barbitúricos. Es importante mencionar que no empleamos los métodos contenidos en el cuadro No.12, ya que están prohibidos.

5.9 Análisis de datos

Para estimar el efecto de la estimulación aleatoria ruidosa cortical, analizamos la amplitud pico a pico de los potenciales provocados somatosensoriales (**Figura 8**) con la ayuda de un programa desarrollado en Matlab 2016b, de acuerdo con el objetivo 2 (**Apéndice, Figura A1**). Dicho programa analiza las bases de datos obtenidas con el programa Axoscope 10.7. Para obtener las gráficas finales empleamos el programa Sigmaplot.

La amplitud del potencial provocado somatosensorial fue calculada al obtener la suma de los valores absolutos del primer componente positivo (P1) y el primer componente negativo (N1) (**Figura 8**).

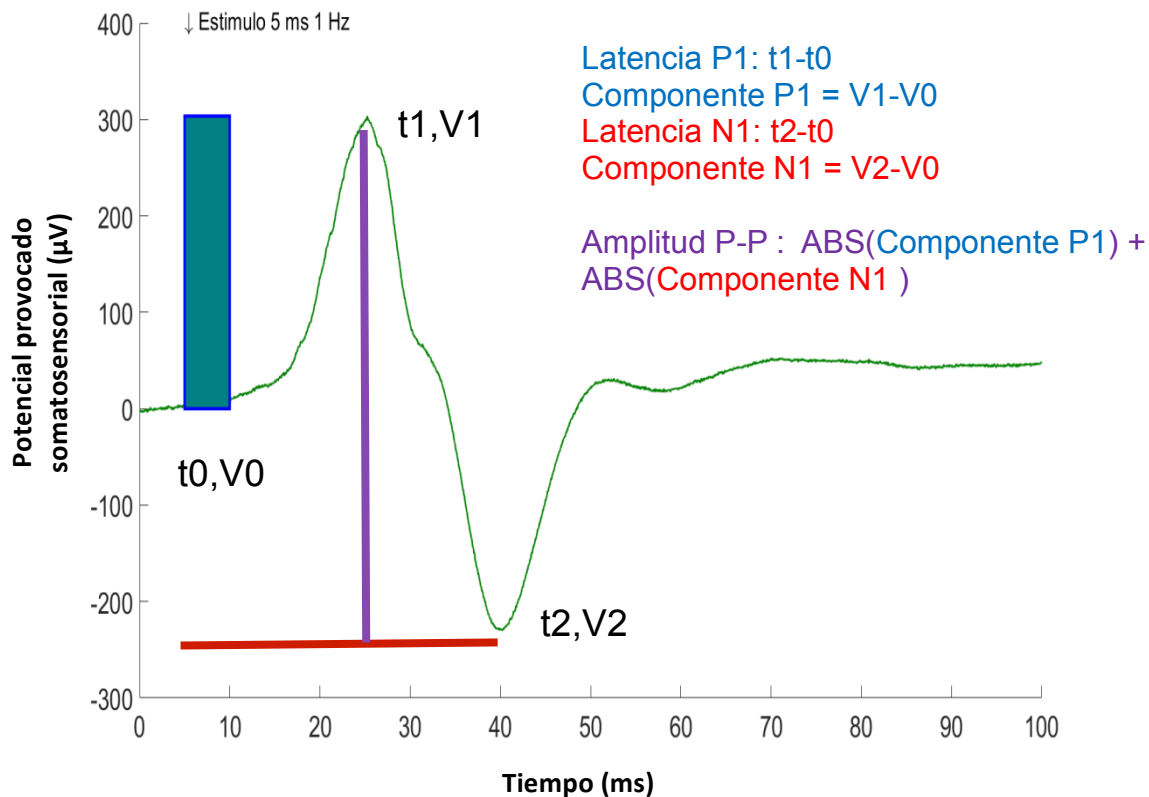


Figura 8. Potencial somatosensorial de la corteza de los barriles, provocado por la estimulación mecánica de las vibrisas de la rata. Se ilustra la forma en que se midió la amplitud de dicho potencial pico a pico. Para ello se empleó el programa computacional de análisis de acuerdo con el objetivo 2 de la presente tesis (Apéndice, Figura A1).

5.10. Análisis Estadístico

Se utilizó el software SPSS Statistics 20 (IBM) con el fin de obtener una diferencia estadística en la actividad de los potenciales provocados somatosensoriales entre las distintas intensidades de estimulación mecánica (**Tabla 1**), además de un antes y un después

de la estimulación eléctrica (0, 10, 20, 30 y 50 minutos). Los datos normalizados se distribuyeron normalmente (*Prueba de Kolmogorov-Smirnov*, $P>0.05$) y mostraron homogeneidad en sus varianzas (*Prueba de Leneve*, $P>0.05$). También se realizó una prueba paramétrica ANOVA de medidas repetidas (grados de libertad = 407), bajo la hipótesis nula de que las diferencias en las medias fueron las mismas a través de todos los factores. Al ser significativas, se realizó una *Prueba post-hoc de Tukey* bajo la hipótesis nula de que las diferencias entre las condiciones eran igual a cero. Todos los efectos se reportaron como significativos si $P<0.05$ (**Tabla 2**)

Nivel	1	2	3	4	5	6
Promedio (mN)	0.68	1.25	1.7	2.2	2.65	3.15
Error Estándar	0.5	0.5	0.5	0.6	0.7	0.7

Tabla 1. Valores promedio \pm error estándar para la estimulación mecánica de las vibrisas de todos los sujetos.

6. Resultados

En la primera etapa de experimentación se aplicaron diferentes intensidades de EERA durante 10 minutos sobre la corteza de los barriles, con el fin de seleccionar la intensidad idónea. A continuación se muestran los resultados obtenidos de un animal para dos niveles de estimulación mecánica de las vibrisas (nivel 3 y nivel 11). Se observó que la estimulación de 0.3 mA fue efectiva. En la **Figura 9** se ilustran registros sucesivos asociados al nivel 3 de EERA.

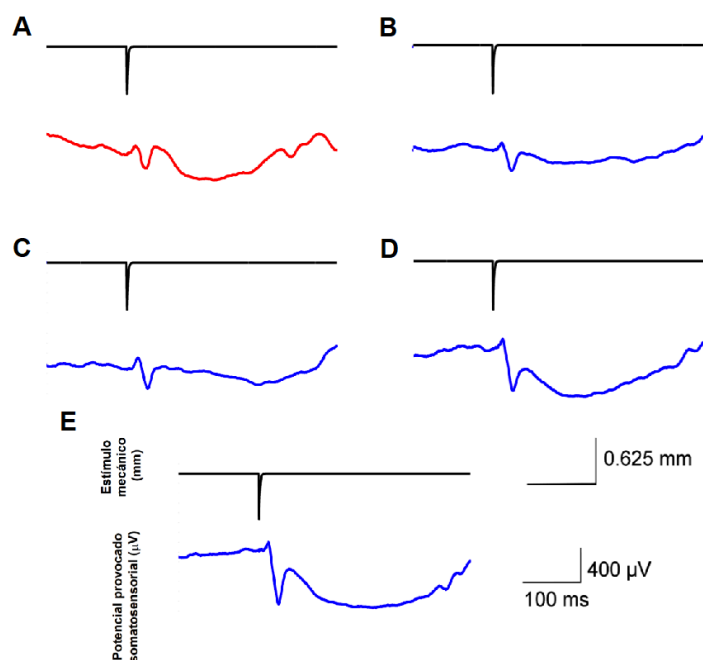


Figura 9. Efectos de la EERA sobre la amplitud de los potenciales somatosensoriales de la corteza de los barriles provocados por la estimulación mecánica de las vibrisas de la rata en el nivel 3. Se ilustra el incremento en la amplitud de dichos potenciales con respecto al tiempo: **A.** antes de la estimulación, **B.** en el tiempo cero después de haber aplicado 10 minutos de EERA, **C.** después de 15 minutos, **D** después de 40 minutos, **E** después de 70 minutos. Los valores de la amplitud pico a pico de dichos potenciales se grafica en la Figura 10.

Por ejemplo, en la **Figura 10** se muestra que el nivel 3 de intensidad de EERA produce un incremento de 170 a 500 μV cuando han transcurrido 70 minutos después de dicha estimulación.

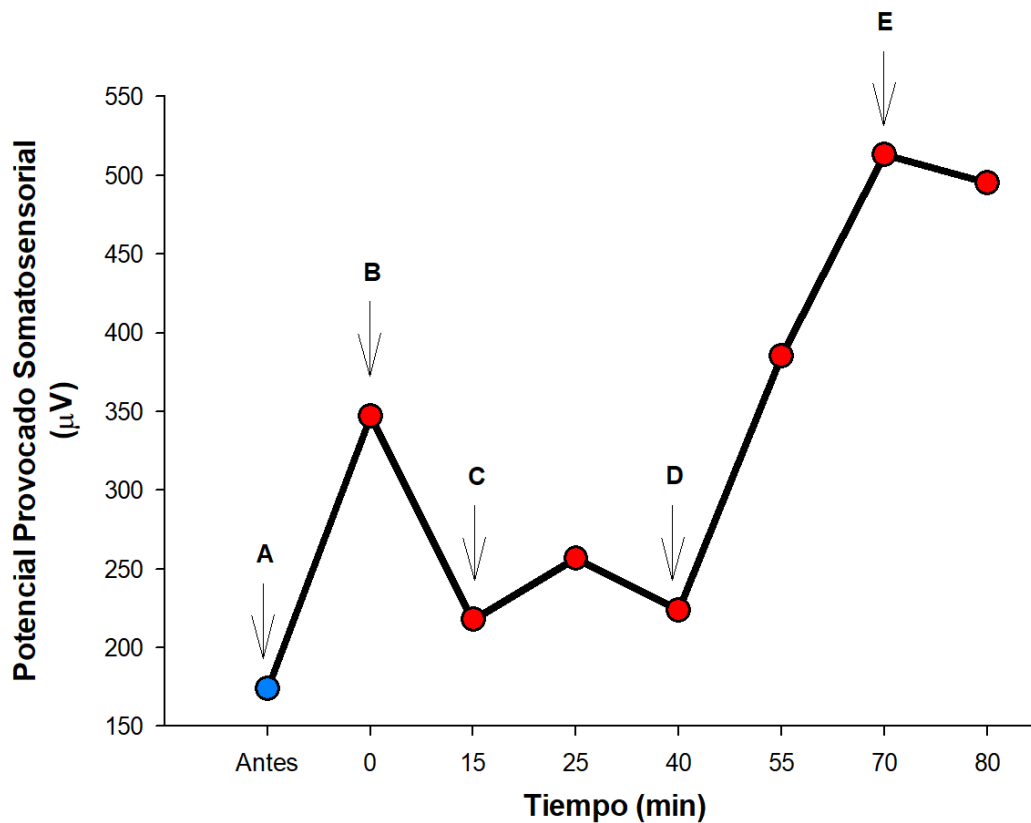


Figura 10. Efectos de la EERA sobre la amplitud de los potenciales somatosensoriales de la corteza de los barriles provocados por la estimulación mecánica de las vibrisas de la rata en el nivel 3. Las flechas indican los valores obtenidos de la Figura anterior.

En el nivel máximo de la estimulación de las vibrisas (nivel 11), el incremento en la amplitud de los potenciales provocados

somatosensoriales con respecto al tiempo fue constante, alcanzando su máxima amplitud a los 80 minutos (**Figura 11**).

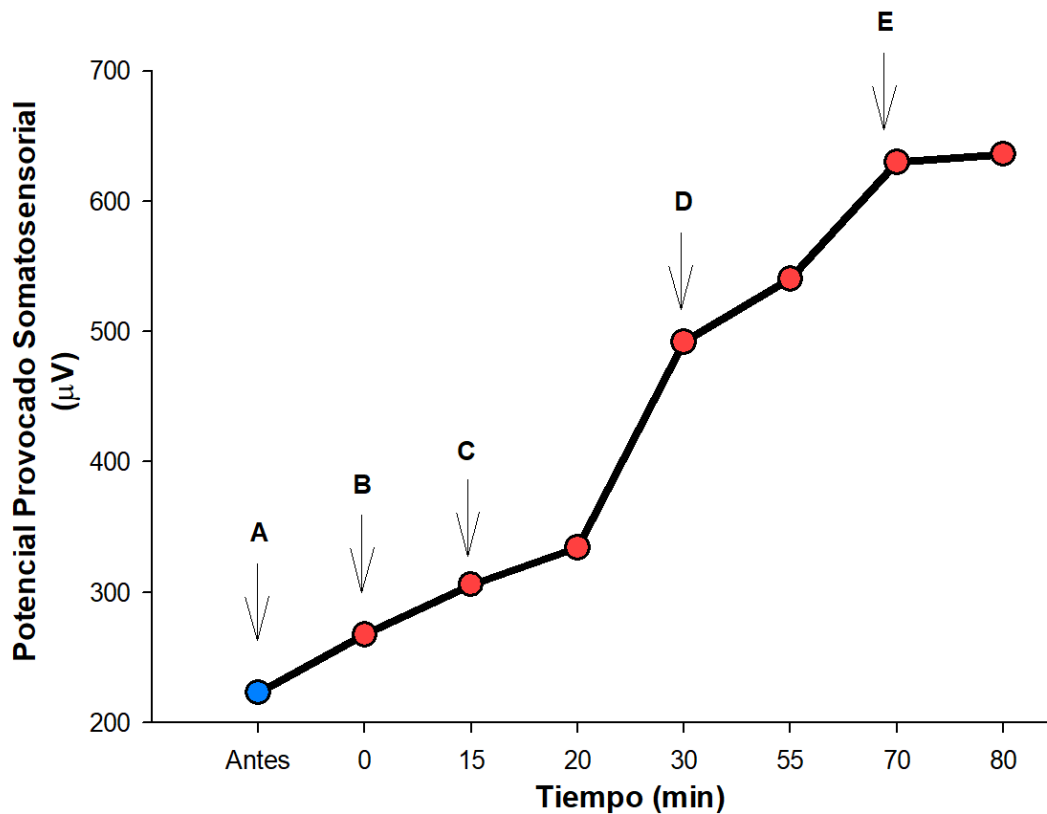


Figura 11. A-E. Respuesta de los potenciales provocados somatosensoriales en el nivel 11 del estímulo aplicado a las vibrisas de la rata con respecto al tiempo (f), antes de los 10 min de EERA (0.3 mA) y hasta 80 minutos después de la estimulación.

Dado que esta intensidad de estimulación eléctrica no afectó los signos vitales del animal y además, produjo resultados estables y reproducibles, entonces, decidimos usar 0.3 mA de intensidad para todos los experimentos de la presente tesis. Este hecho se presenta de manera esquemática en la **Figura 12**.

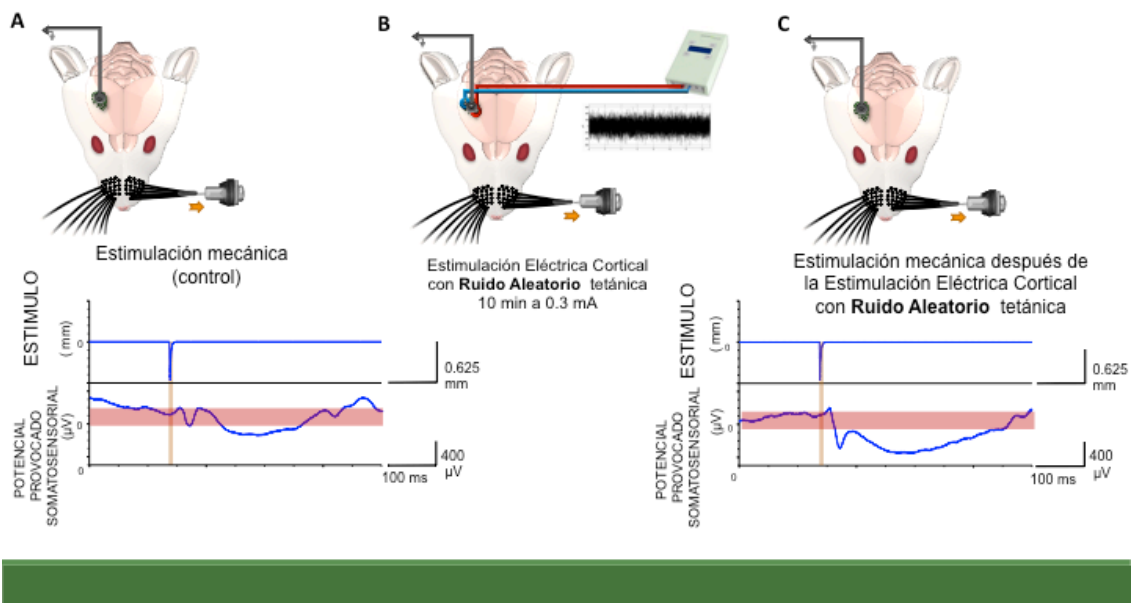


Figura 12. Potencial provocado somatosensorial, antes durante y después de la EERA.

Específicamente, en los experimentos subsiguientes se obtuvieron experimentos exitosos, y libres de artefactos, de 10 ratas Wistar adultas de 301 ± 53 g (media \pm error estándar). Se les aplicó la EERA en la corteza somatosensorial de los barriles con ruido aleatorio de alta frecuencia en el rango de 101-640 Hz, durante 10 minutos y con 0.3 mA (**Figura 12**).

En la **Figura 13** se muestra un ejemplo de una secuencia de potenciales provocados somatosensoriales superpuestos obtenidos de un animal. Ello permite evidenciar que la aplicación de la EERA de 0.3 mA produce un incremento en la amplitud de dichos potenciales.

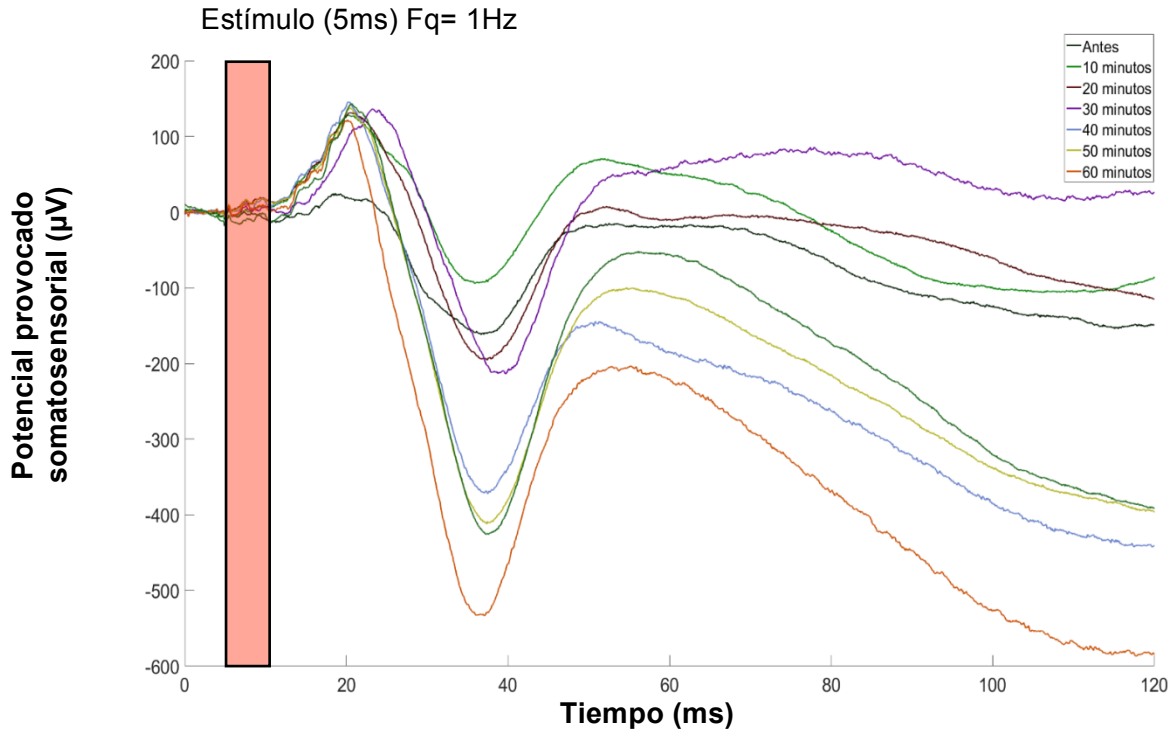


Figura 13. Ejemplos de potenciales provocados somatosensoriales superpuestos con un mismo nivel de estímulo mecánico (nivel 6) de protracción de las vibrisas antes y después de la EERA en el transcurso de una hora. El tiempo de registro se ilustra en el recuadro a la derecha.

En la presente tesis se usó un protocolo detallado de estimulación de mecánica de las vibrisas y del registro de los potenciales corticales provocados, en una ventana amplia de tiempo (mínimo de una hora. Véase sección de Métodos). Es decir, se cuantificó la evolución temporal del cambio en amplitud pico a pico de los potenciales provocados somatosensoriales para diferentes intensidades de protracción de las vibrisas. Esto se hizo para todos los 10 animales.

A continuación se presentarán algunos ejemplos de lo que típicamente ocurre después de la EERA. Esto permitirá tener una visión de la forma en que la EERA afecta la excitabilidad cortical de la corteza de los barriles. Al finalizar dichos ejemplos, se muestran los resultados poblacionales.

En la **Figura 14** se muestran los resultados obtenidos de un animal. Para construir las curvas se utilizaron 7 niveles de estimulación mecánica, los cuales fueron aplicados de manera aleatoria. Los datos corresponden a la intensidad de estimulación mecánica (Nivel 6), que era un 30 % del nivel máximo de estimulación. En dicha figura, se aprecia que la amplitud de los potenciales provocados somatosensoriales del mismo sujeto fue creciendo con respecto a los niveles de intensidad de estimulación mecánica de las vibrisas, y con respecto al transcurso del tiempo. Dicho crecimiento persiste aún hasta los 60 minutos de registro. En estas gráficas de la **Figura 14** también se puede observar que los potenciales provocados somatosensoriales empiezan a crecer abruptamente a partir del nivel 1 de estimulación. Por lo tanto, para este animal, se puede decir que alrededor del nivel 1 hay un “umbral” de activación del sistema somatosensorial de los barriles. En este tipo de gráficas, también se puede observar que el perfil de incremento de amplitud de los potenciales provocados somatosensoriales, es muy similar con respecto al tiempo en que se obtuvieron los registros (valores en el panel de la derecha).

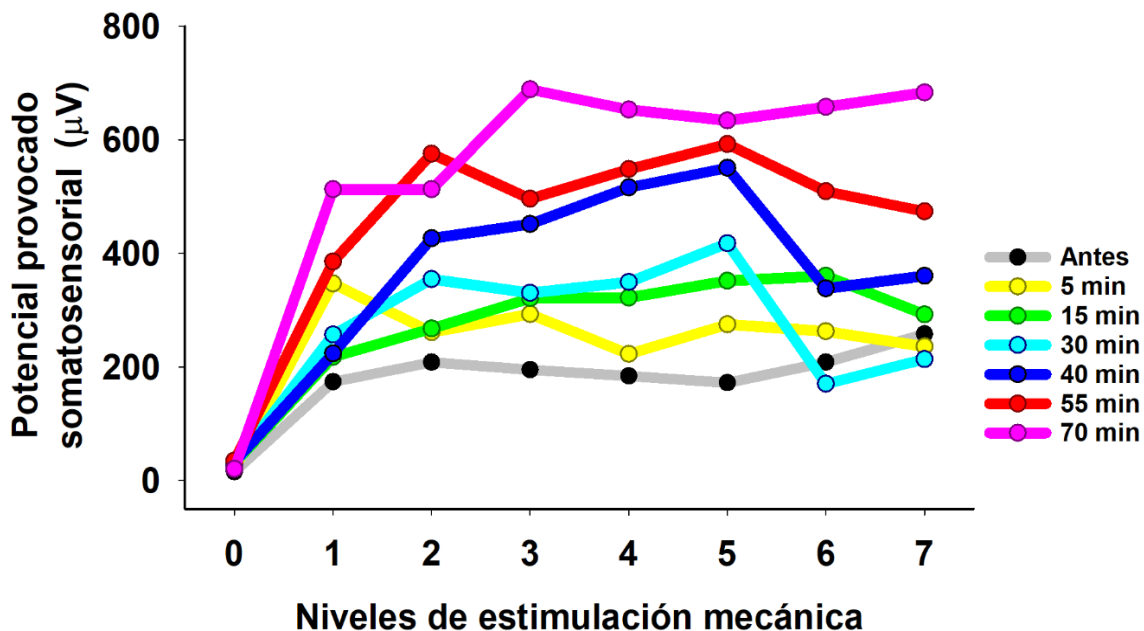


Figura 14. Amplitudes pico a pico (μV) de los registros de los potenciales provocados somatosensoriales en los 7 niveles de estimulación mecánica en un sujeto experimental.

En otro animal (**Figura 15**), se obtuvo un perfil diferente (respecto al umbral) en las curvas de “amplitud pico a pico” versus “los niveles de estimulación mecánica de las vibrisas”. Nótese que, en el caso de las gráficas de la **Figura 15**, es el nivel 4 donde se encuentra el “umbral” de activación, en que los potenciales somatosensoriales provocados corticales de las vibrisas aumentan abruptamente en amplitud. En cambio, para las curvas de la **Figura 14**, dicho “umbral correspondió al nivel 1.

Si se comparan las Figuras 14 y 15, también se puede ver que el perfil de las curvas se mantiene para cada caso, respetando el punto umbral de ascenso.

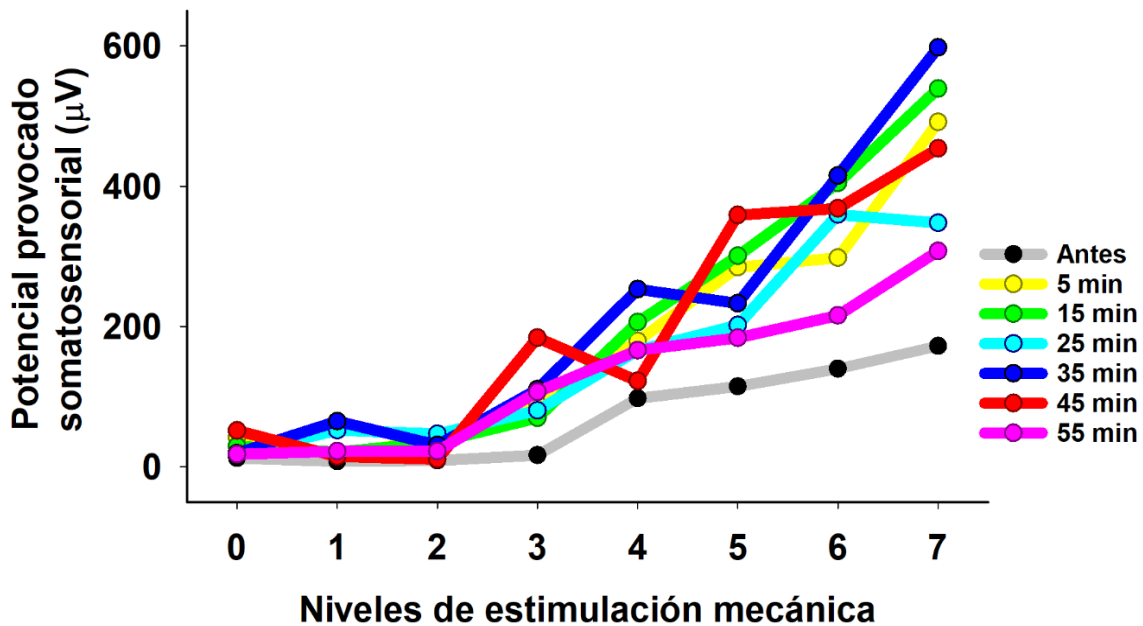


Figura 15. Amplitudes pico a pico (μV) de los registros de los potenciales provocados somatosensoriales en los 7 niveles de estimulación mecánica en otro sujeto experimental.

Con la finalidad de tener una base de datos que permita la comparación cualitativa del efecto de la EERA, se han concentrado los resultados experimentales en una sola figura. En la **Figura 16** se muestran las gráficas obtenidas de los 10 sujetos experimentales. Se encontró que el valor del “umbral” de activación fue una característica propia de cada animal. Los valores de “umbral” de los 10 animales registrados estuvieron entre el nivel 1 y el nivel 4 de estimulación mecánica. Algo también importante de este tipo de gráficas, es que se encontró que hubo un incremento en la amplitud de los potenciales provocados somatosensoriales en todos los casos, independientemente del nivel de umbral característico de cada animal.

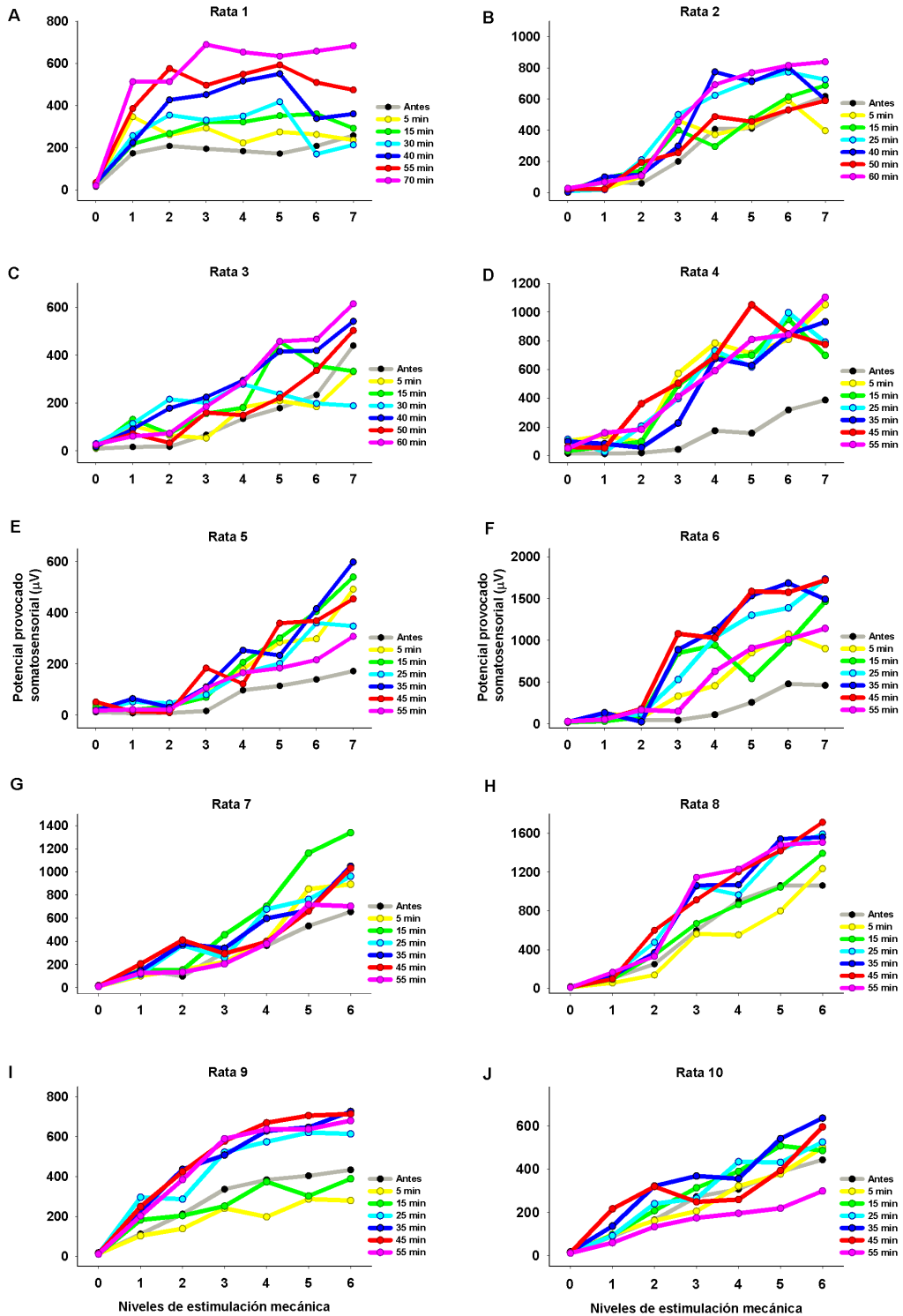


Figura 16. Amplitudes pico a pico (μV) de los potenciales provocados somatosensoriales hasta 60 minutos después de EERA en los 6 o 7 niveles de estimulación mecánica.

Es importante mencionar que, para fines ilustrativos y de comparación de perfiles, los datos de la **Figura 16** se acotaron hasta los 60 minutos de registro y hasta el nivel 6 o 7 de estimulación mecánica. Esto se hizo también, ya que en la mayoría de los experimentos se obtuvieron registros hasta ese tiempo, y hasta el nivel 6 o 7 de estimulación mecánica de las vibrisas.

Otro aspecto fundamental de los resultados es que hubo casos en los que la estimulación se hizo hasta el nivel 11 de estimulación mecánica de las vibrisas, y hasta una ventana de tiempo de registro de 2.6 o más de 5 horas. Por ejemplo, en la **Figura 17** se muestra el caso de un animal que se registró hasta los 160 minutos (2.6 horas) y en el que se aplicaron hasta 11 niveles de intensidad de estimulación mecánica a las vibrisas.

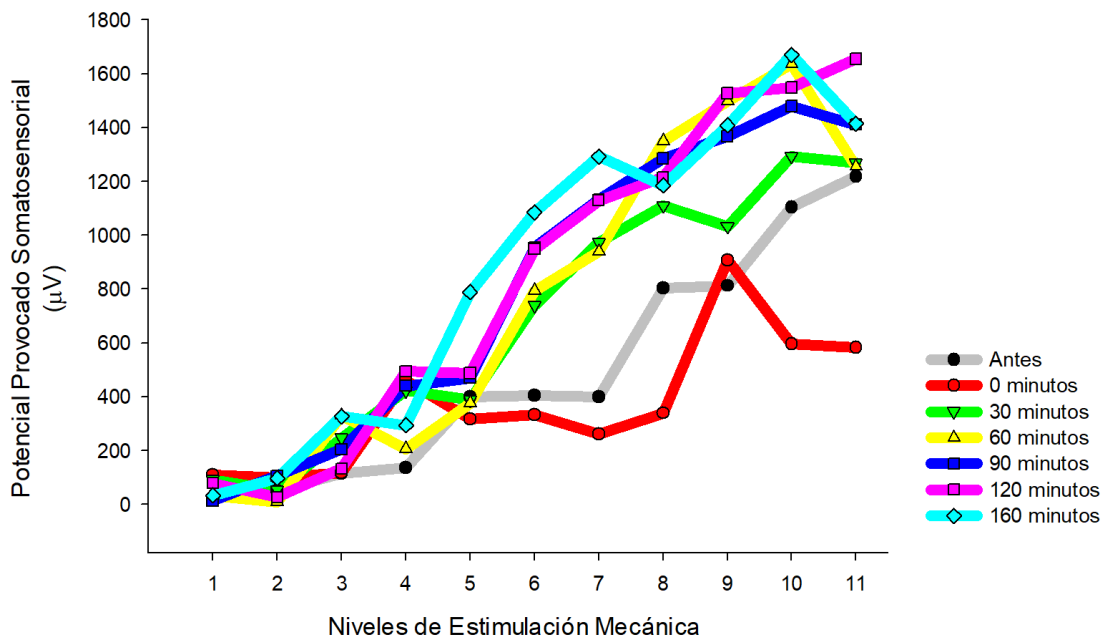


Figura 17. Amplitudes pico a pico (μV) de los registros de los potenciales provocados somatosensoriales hasta 160 minutos después de EERA en los 11 niveles de estimulación mecánica.

En la **Figura 18**, se ilustran los resultados de otro animal, pero en el que la ventana de tiempo de registro se extendió hasta los 390 minutos (¡6.5 horas!). Este caso fue excepcional, en un animal en el que se pudo tener un control en la estabilidad de la preparación de larga duración.

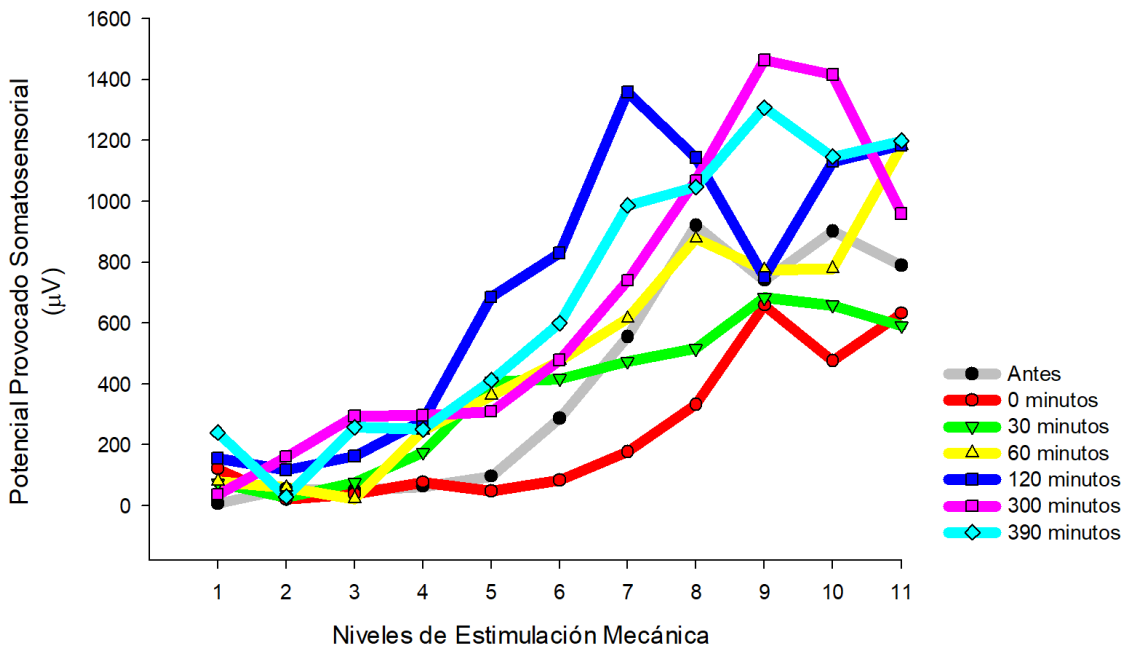


Figura 18. Amplitudes pico a pico (μV) de los registros de los potenciales provocados somatosensoriales hasta 390 minutos (6.5 horas) después de la EERA en los 11 niveles de estimulación mecánica.

Con el fin de comparar los resultados de la presente tesis con los obtenidos por Terney y cols. (2008) se obtuvieron las gráficas de amplitud de los potenciales provocados somatosensoriales con respecto al tiempo después de la EERA. En la **Figura 19** se muestran las gráficas obtenidas para niveles fijos de estimulación mecánica de las vibrisas para los 10 sujetos experimentales.

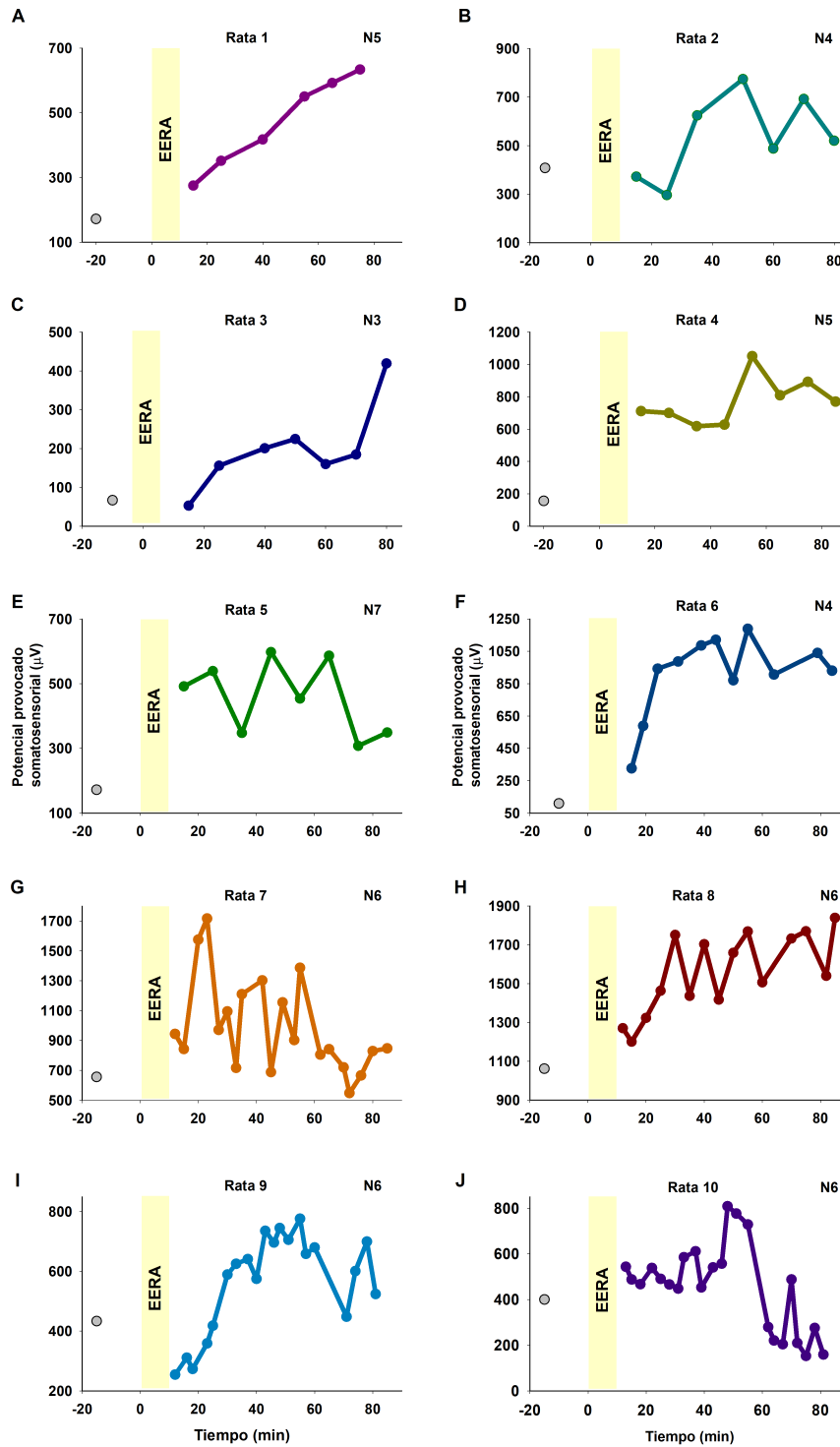


Figura 19. Amplitudes pico a pico (μV) de los registros de los potenciales provocados somatosensoriales con respecto al tiempo después de la EERA. Los niveles de estimulación fijos de las vibrissas se ilustran a la derecha de cada gráfica.

Una inspección de la **Figura 19** permite destacar que, aunque hay diferentes perfiles de respuesta después de la EERA, en todos los casos se encontró que la EERA produjo un incremento sistemático en la amplitud de los potenciales provocados somatosensoriales. Esto es consistente con las figuras previamente mostradas.

Enseguida, se promediaron los valores de la amplitud de los potenciales provocados somatosensoriales para todos los sujetos, correspondientes al 30 % y 100 % de la estimulación mecánica de las vibrisas, antes y después de la EERA. Esto se ilustra en la **Figura 20**.

En los trazos promedio se observa un aumento constante en todos los niveles de estimulación mecánica durante el transcurso de 50 minutos después de la aplicación de la EERA. Tanto al 30% y como al 100 % de la intensidad de estimulación de mecánica de las vibrisas, se aprecia un crecimiento constante de los potenciales provocados somatosensoriales para el gran promedio de todos los 10 sujetos.

Al observar con detalle los perfiles de las gráficas de la Figura 20, es notable la similitud de las dos gráficas. Ambas empiezan a incrementar después de los 10 minutos de haber aplicado la EERA y alcanzan un máximo de potenciación a los 40 minutos, para después decaer atenuadamente a los 50 minutos. Esto quiere decir que no importando el número de neuronas reclutadas al estimular al 30 % o al 100 %, esas neuronas exhiben un fenómeno de aumento de excitabilidad.

Figura Poblacional 10 sujetos

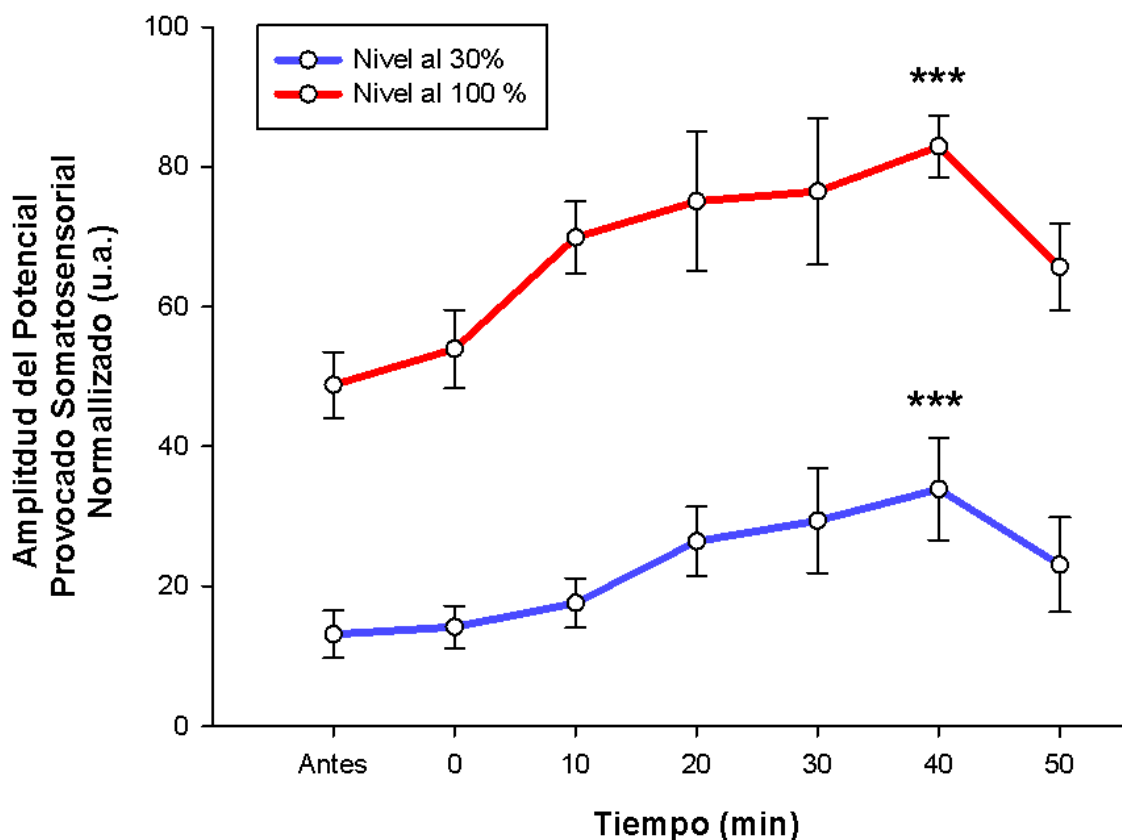


Figura 20. Gran promedio \pm error estándar de amplitudes pico a pico (μV) obtenido de los 10 sujetos experimentales. Comparativa de los registros promedio de los potenciales provocados somatosensoriales a 30 % y a 100 % de estimulación mecánica y los cambios registrados en el transcurso del tiempo después de la EERA. Se ilustra que los datos fueron altamente significativos a los 40 minutos, con $***p < 0.0001$. Se hizo uso de las pruebas estadísticas descritas en la sección de métodos.

Se realizó un análisis estadístico (**Tabla 2**) de los datos experimentales poblacionales (**Apéndice, Tabla A1**) de las respuestas óptimas de cada sujeto (**Figura 19**). Esto se ilustra en la **Figura 21**, donde se muestran los valores de las amplitudes normalizadas pico a pico (μV) de los potenciales provocados somatosensoriales (promedio

± error estándar) obtenidos de los niveles óptimos de los 10 sujetos experimentales. El nivel de significancia se muestra con asteriscos para las comparaciones múltiples, ** $p < 0.001$ y *** $p < 0.0001$. Nótese que la EERA produce un efecto potenciador estadísticamente significativo sobre la amplitud de los potenciales somatosensoriales provocados por la estimulación de las vibrisas en la rata anestesiada.

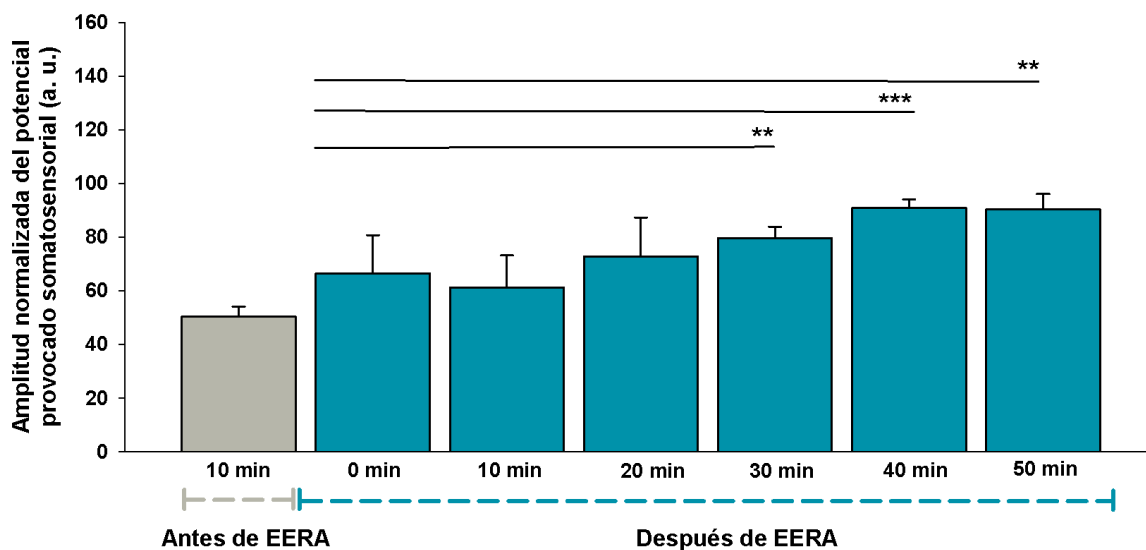


Figura 21. Gran promedio ± error estándar de amplitudes normalizadas pico a pico (μV) obtenido de los niveles de respuesta óptima de los 10 sujetos experimentales. Se ilustra que los datos fueron altamente significativos a ** $p < 0.001$ y *** $p < 0.0001$. Se hizo uso de las pruebas estadísticas descritas en la sección de métodos.

En la **Tabla 1** se pueden apreciar los valores promedio ± error estándar en mN, de los diferentes niveles de estimulación mecánica de las vibrisas correspondientes en las Figura 14, 15 y 16.

Nivel 1						
	Antes vs 0 min	Antes vs 10 min	Antes vs 20 min	Antes vs 30 min	Antes vs 40 min	Antes vs 50 min
Media normalizada	13.00	13.00	13.77	16.19	17.86	16.11
Error estándar	4.13	3.02	4.45	3.31	5.30	6.36
Prueba de Tukey (p)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

Nivel 2						
	Antes vs 0 min	Antes vs 10 min	Antes vs 20 min	Antes vs 30 min	Antes vs 40 min	Antes vs 50 min
Media normalizada	14.19	17.61	26.43	29.39	33.91	23.07
Error estándar	3.06	3.57	4.93	7.48	7.31	6.78
Prueba de Tukey (p)	1.0	1.0	0.98	0.89	0.41	1.0

Nivel 3						
	Antes vs 0 min	Antes vs 10 min	Antes vs 20 min	Antes vs 30 min	Antes vs 40 min	Antes vs 50 min
Media normalizada	30.34	37.80	41.96	44.23	47.07	40.30
Error estándar	4.95	3.79	7.17	7.40	5.70	9.25
Prueba de Tukey (p)	0.78	0.12	0.03*	0.01 *	0.001**	0.04*

Nivel 4						
	Antes vs 0 min	Antes vs 10 min	Antes vs 20 min	Antes vs 30 min	Antes vs 40 min	Antes vs 50 min
Media normalizada	37.07	47.29	58.75	59.09	58.81	50.55
Error estándar	4.52	3.54	7.52	7.26	7.72	7.87
Prueba de Tukey (p)	0.16	0.001*	0.000001***	0.000001***	0.000001***	0.0002**

Nivel 5						
	Antes vs 0 min	Antes vs 10 min	Antes vs 20 min	Antes vs 30 min	Antes vs 40 min	Antes vs 50 min
Media normalizada	49.14	59.14	66.51	67.75	76.91	59.29
Error estándar	3.39	5.52	8.42	9.36	5.17	7.02
Prueba de Tukey (p)	0.0003**	0.000001***	0.000001***	0.000001***	0.000001***	0.000001***

Nivel 6						
	Antes vs 0 min	Antes vs 10 min	Antes vs 20 min	Antes vs 30 min	Antes vs 40 min	Antes vs 50 min
Media normalizada	53.94	69.90	75.08	76.50	82.93	65.68
Error estándar	5.61	5.13	9.98	10.50	4.40	6.18
Prueba de Tukey (p)	0.000001***	0.000001***	0.000001***	0.000001***	0.000001***	0.000001***

Tabla 2. Gran promedio \pm error estándar de amplitudes normalizadas pico a pico obtenido por cada nivel de los 10 sujetos experimentales. Se realizó ANOVA paramétrica de una vía de medidas repetidas. Los datos altamente significativos se muestran como * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$.

7. Discusión

En nuestros experimentos, observamos que el fenómeno de la excitabilidad cortical por EERA de alta frecuencia tiene un efecto similar a lo reportado por Terney y colaboradores (60 minutos, **Figura 4**). Aunque dicho fenómeno, llegó a presentarse a los 160 minutos (**Figura 17**) en un animal, y en otro animal, hasta los 390 minutos (**Figura 18**) después de la estimulación eléctrica EERA. Esto sugiere que el efecto potenciador de la EERA a nivel cortical sobre la amplitud de los potenciales provocados somatosensoriales en la rata puede tener un efecto mayor al reportado por Terney y colaboradores (60 minutos, **Figura 4**) para el sistema motriz en el humano después de la aplicación de la EERA sobre el cuero cabelludo. Esto puede deberse a las características diferentes de los tejidos estimulados. En el caso de los experimentos de Terney y cols. (2008) se aplicó la EERA sobre el cuero cabelludo y en el caso de la presente tesis, la EERA se aplicó directamente sobre la corteza cerebral. Otra posible explicación para explicar estas diferencias puede ser que los sistemas sensoriales sean más excitables que los sistemas motrices.

En trabajos futuros será necesario diseñar experimentos para examinar los mecanismos fisiológicos por los cuales la EERA produce menor o mayor potenciación de los potenciales somatosensoriales dependiendo de las condiciones fisiológicas de cada animal. Por lo pronto, solo podemos mencionar algunas especulaciones que podrían ser útiles para el diseño de nuevos experimentos. Por ejemplo, es posible que el estado de reposo de la actividad eléctrica neuronal de la corteza de los barriles condicione el tipo de potenciación de los

potenciales provocados somatosensoriales, exhibiendo una menor o mayor potenciación en el tiempo. Esto es consistente con una discusión que Terney y cols. (2008) plantean en su artículo, de que este tipo de estimulación desincronizaba los ritmos oscilatorios corticales naturales. Esto apoyando también la posibilidad de que la EERA tiene potencial aplicación en situaciones con sobreactividad patológica dentro de ciertas frecuencias oscilatorias.

Los mecanismos fisiológicos de los efectos de la EERA se han estudiado muy poco (Paulus, 2011; Remedios y cols., 2019). El grupo de Paulus en Alemania, sospecha que la EERA aplicada en el cuero cabelludo del humano puede actuar sobre la apertura de canales de Na^+ de las neuronas corticales (Paulus, 2011). Otros investigadores opinan que la EERA pudiera producir un simple incremento en la sensibilidad de las redes neuronales a la modulación (Francis y cols, 2003). Esto es consistente con los resultados de un trabajo reciente de nuestro laboratorio, en el que se encontró que un nivel intermedio de estimulación de corto plazo del tipo EERA sobre las neuronas piramidales aisladas de la corteza somatosensorial, produce un incremento significativo en la amplitud de las corrientes de Na^+ (Remedios y cols., 2019).

Hasta el 2015 se pensaba que la mayoría de los mecanismos que inducen la neuroplasticidad a través de métodos de EET, eran mediados por potenciación de receptores NMDA. Sin embargo, Chaieb y cols. (2015) sugirieron un efecto más pronunciado de los canales de Na^+ dependientes de voltaje después de los efectos de la EERA. En dichos estudios indirectos de Chaieb y cols. (2015) realizados en

humanos, el bloqueador de los canales de sodio, carbamazepina, mostró una tendencia inhibitoria de los potenciales provocados motrices, después de la estimulación. El agonista GABA_A, lorazepam, suprimió la excitabilidad cortical inducida por EERA, que aumenta a los 0-20 minutos y 60 minutos. El agonista parcial de receptor NMDA, D-cicloserina, y el receptor agonista NMDA, dextrometofan y el receptor agonista dopaminérgico D2/D3 (ropinirol) no tuvieron efectos significativos en el aumento de excitabilidad visto en la EERA. Es posible que mecanismos similares estén ocurriendo en la preparación animal estudiada en la presente tesis.

Por su parte, Fertoni y cols. (2011), sugirieron que el mecanismo de acción de la EERA puede basarse en las repetidas estimulaciones subumbrales que previenen la homeostasis del sistema. Esto puede potenciar la actividad de las poblaciones neuronales involucradas en una tarea, por lo que facilitan la transmisión entre neuronas. El aumento de la excitabilidad neuronal también puede deberse a los efectos de la EERA sobre la actividad de los circuitos inhibitorios corticales, donde se ha reportado que dicha estimulación tiene un efecto excitatorio directo sobre el primer componente de los potenciales provocados de la corteza somatosensorial (Saito y cols, 2019; Moliadze y cols., 2012). Es posible que este tipo de efectos también ocurran en la preparación de la rata, y esto explique en parte los resultados que se obtuvieron en la presente tesis.

De igual manera, los efectos de la EERA obtenidos en la presente tesis, pueden explicarse en el contexto de la resonancia estocástica (van der Groen y Wenderoth, 2016). La EERA es una estimulación de

frecuencia aleatoria que puede inducir una actividad aleatoria en el sistema (ruido). La presencia de ruido neuronal puede servir como un pedestal que aumente la sensibilidad de las neuronas a un rango dado de entradas de baja intensidad, por lo que se incrementa la relación señal-ruido. Esto podría explicar los resultados de potenciación como los de la **Figura 16**, **Figura 19** y **Figura 20**.

Por lo que, los efectos de la EERA en la actividad neuronal pueden no ser solo adiciones aleatorias de ruido, sino también pueden estar relacionadas a la activación funcional inducida por la tarea. En su protocolo estándar, la técnica de la EERA incluye todas las frecuencias desde 0.1-640 Hz con distribución de ruido aleatorio. En el espectro de frecuencia, todos los coeficientes tienen el mismo tamaño y dan las características del “ruido blanco”. Sin embargo, en su aplicación se muestra una mayor excitabilidad neuronal con altas frecuencias (101-640 Hz) que con bajas frecuencias (0.1-100Hz). En la presente tesis, solo se probó el rango de alta frecuencia, pero sería importante examinar el rango de baja frecuencia en futuras tesis de este laboratorio.

En otro estudio en la corteza primaria, que representa a las extremidades inferiores, se encontró que las altas frecuencias de la EERA incrementaban significativamente la actividad excitatoria de los músculos de las piernas por hasta 40 minutos después de la estimulación, con una respuesta máxima a los 30 minutos (Laczo y cols., 2014). Esto es también consistente con los resultados de la presente tesis y los antecedentes de Terney y cols. (2008).

En el 2009, Chaieb y cols., a través de imágenes por resonancia magnética dependiente de los niveles de oxigenación sanguínea, monitorearon la modulación en la actividad sensorimotora en humanos después de la aplicación corta de 4 min de EERA. Se obtuvieron los mapas de activación para una tarea de oposición del pulgar e índice de la mano derecha, con una EERA a 1 mA. La EERA del hemisferio izquierdo de la corteza sensorimotora resultó en una disminución en el promedio de números de píxeles activados por un 17 %, en el área de la mano. Los resultados obtenidos mostraron una reducción en la respuesta dependiente de los niveles de oxigenación sanguínea, lo cual indica un efecto inhibitorio al tener una estimulación de 4 minutos de duración. En este contexto, sería interesante examinar este tipo de protocolos de medición de niveles de oxigenación en nuestro modelo animal. Esto es factible de realizar en nuestro laboratorio, ya que recientemente hemos mostrado que es posible estudiar la hemodinámica de la médula espinal y el tallo cerebral por medio de métodos ópticos (Moreno-Castillo y cols., 2020). Será interesante explorar cómo cambia la hemodinámica y los niveles de oxigenación de la sangre antes, durante y después de la EERA aplicada sobre la corteza de los barriles. Esto permitiría obtener un modelo animal que valide y extienda las observaciones de Chaieb y cols. (2009).

Chaieb y cols. (2009) también estudiaron los efectos de la EERA a altas frecuencias (101-640 Hz) y con el decremento en el tiempo de la estimulación (4, 5 y 6 minutos) en la excitabilidad de la corteza motora (Chaieb, Paulus y Antal, 2011). Estos investigadores encontraron un incremento facilitado significativo a los 5 y 6 minutos, y ninguno a los 4

minutos, por lo que, la duración mínima necesaria de estimulación es de 5 minutos para observar los efectos de aumento en la excitabilidad deseados. En este contexto, será necesario que se use nuestro modelo animal para examinar los efectos de la EERA de diferente duración sobre la amplitud de los potenciales provocados somatosensoriales.

Con la EETCA, experimentaron el uso de altas frecuencias (1, 2, y 5 kHz) por 10 minutos a 1 mA (con una densidad de corriente de $20.8 \mu\text{A}/\text{cm}^2$) y encontraron un incremento en la amplitud de los potenciales provocados motrices con todas las frecuencias. En este caso, será también necesario que en experimentos futuros se emplee nuestro paradigma experimental pero usando la EETCA sobre la corteza de los barriles.

7.1. Excitabilidad en la corteza auditiva

Van Doren y cols. (2014) estimularon la corteza auditiva con una EERA de alta frecuencia a 2 mA durante 20 minutos. Mediante electroencefalografía, compararon los efectos en estado de reposo y los potenciales provocados auditivos con la respuesta auditiva, en estado estacionario. Los resultados indicaban un incremento en dicha respuesta con una frecuencia de 40 Hz de tono modulado. Esto es consistente con nuestros resultados en el sentido de que hay evidencia de que la EERA no solo facilita al sistema motriz sino también a un sistema sensorial como el auditivo.

7.2. Excitabilidad en la corteza visual

Fertonani y cols. (2011) aplicaron la EERA al sistema visual, y compararon bandas de alta y baja frecuencia con otras técnicas de EET. La EERA de alta frecuencia en la corteza visual de sujetos sanos durante la tarea de aprendizaje perceptual visual mostró grandes mejoras en el desempeño y el efecto de discriminación, más que la estimulación eléctrica transcraneal con corriente directa (**EETCD**). Ello llevaba a pensar que era el mejor método para modular el comportamiento positivamente. Van der Groen y Wenderoth (2016) por su parte, aplicaron EERA con intensidades de 0–1.5 mA en la corteza visual y detectaron un aumento en el desempeño en la detección de señales visuales. Sin embargo, estos autores no estudiaron los efectos de la EERA de larga duración de 10 minutos, como en el trabajo de Terney y cols. (2008), ni presentaron un modelo animal para estudiar el fenómeno de facilitación de los potenciales sensoriales como lo que estamos mostrando en la presente tesis.

7.3. Funciones cognitivas

Estimulaciones de alta frecuencia de EERA también mostraron un efecto para la mejora de la velocidad en habilidades matemáticas (Snowball y cols., 2013) y el aprendizaje perceptual (Fertonani y cols., 2011). Alternativamente, un estudio por EERA y fMRI mostró que estimulaciones de alta frecuencia tenían un efecto excitatorio en un cerebro en reposo, mientras que la excitabilidad disminuía cuando los participantes completaban una tarea motora durante la estimulación (Saiote y cols., 2013). Esto muestra que no solo los sistemas sensoriales y los motrices pueden ser afectados por la EERA.

7.4. En psiquiatría y otras aplicaciones.

Se ha reportado un caso para el tratamiento de depresión crónica con la EERA, con un mayor rango de efectividad que la EETCD. De igual manera, la EERA se propone como una terapia para la esquizofrenia (Palm y col., 2013) y dolor neuropático (Alm y cols., 2013). Esto es importante, ya que muestra que la acción de la EERA tiene efectividad a nivel psiquiátrico a nivel central, y por lo tanto, es posible que también a nivel periférico, en el sistema somatosensorial en el humano.

7.5. Ventajas de la estimulación eléctrica

Terney y cols. (2008) aplicaron una densidad de corriente máxima de $62.5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ sobre la corteza motora, que está dentro de los parámetros aceptados de seguridad para la EETCD. Y el electrodo de referencia de $11.9 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ de densidad de corriente. Cabe mencionar que dado que empleamos para la presente tesis el mismo estimulador que usaron Ternery y cols. (2008), podemos decir que usamos densidades de corriente comparable en nuestra preparación, pero con intensidades de corriente eléctrica aplicada directamente a la corteza cerebral que no afectan la viabilidad de nuestra preparación. Esta fue de hecho, la razón por la cual realizamos experimentos piloto, para primero establecer la intensidad de corriente idónea a usar en nuestros experimentos. Después de dicha búsqueda encontramos que 0.3 mA de intensidad fue la idónea.

Comparado con la EETCA, la EERA tiene la ventaja de ser más cómoda para los pacientes (Moliadze y cols, 2010), ya que evita las limitaciones de la dirección en el flujo de corriente que pueden inducir

lesiones en la piel bajo ciertas condiciones (Terney y cols. 2008). De igual manera, el uso de la EERA muestra una menor percepción cutánea y una tasa de respuesta menor a los electrodos y las corrientes aplicadas (Ambrus y cols, 2010). Entre las posibles sensaciones que se llegaron a reportar, se encuentran comezón en el cuero cabelludo, el escuchar ruido blanco, sensación en la nariz, presión intracraneal, la visión de destellos y el escuchar ruidos. Sin embargo, en las pruebas placebo donde no se aplicó ninguna estimulación, los sujetos también llegaron a presentar estas sensaciones. Es por esta razón que en la presente tesis seleccionamos la EERA en lugar de la EETCA.

8. Conclusión

Se muestra por primera vez el fenómeno de incremento en la excitabilidad somatosensorial por EERA tetánica sobre la corteza de los barriles en un modelo animal.

9. Bibliografía

- Adibi, M. (2019). Whisker-mediated touch system in rodents: from neuron to behavior. *Frontiers in systems neuroscience*, 13, 40.
- Alm, P. A., & Dreimanis, K. (2013). Neuropathic pain: transcranial electric motor cortex stimulation using high frequency random noise. Case report of a novel treatment. *Journal of pain research*, 6, 479.
- Ambrus, G. G., Paulus, W., & Antal, A. (2010). Cutaneous perception thresholds of electrical stimulation methods: comparison of tDCS and tRNS. *Clinical Neurophysiology*, 121(11), 1908-1914.
- Antal, A., & Paulus, W. (2013). Transcranial alternating current stimulation (tACS). *Frontiers in human neuroscience*, 7.
- Chaieb, L., Antal, A., & Paulus, W. (2015). Transcranial random noise stimulation-induced plasticity is NMDA-receptor independent but sodium-channel blocker and benzodiazepines sensitive. *Frontiers in neuroscience*, 9, 125.
- Chaieb, L., Kovacs, G., Cziraki, C., Greenlee, M., Paulus, W., & Antal, A. (2009). Short-duration transcranial random noise stimulation induces blood oxygenation level dependent response attenuation in the human motor cortex. *Experimental brain research*, 198(4), 439-444.
- Chaieb, L., Paulus, W., & Antal, A. (2011). Evaluating aftereffects of short-duration transcranial random noise stimulation on cortical excitability. *Neural plasticity*, 2011.

- Fertonani, A., Pirulli, C., & Miniussi, C. (2011). Random noise stimulation improves neuroplasticity in perceptual learning. *Journal of Neuroscience*, 31(43), 15416-15423.
- Francis, J. T., Gluckman, B. J., & Schiff, S. J. (2003). Sensitivity of neurons to weak electric fields. *Journal of Neuroscience*, 23(19), 7255-7261.
- Hallett, M. (2007). Transcranial magnetic stimulation: a primer. *Neuron*, 55(2), 187-199.
- Hebb, D. O. (2005). *The organization of behavior: A neuropsychological theory*. Psychology Press.
- Kadosh, R. C. (2014). *The stimulated brain: cognitive enhancement using non-invasive brain stimulation*. Elsevier.
- Kandel, E., Schwartz, J., Jessell, T., Siegelbaum, S., & Hudspeth, A. J. (2014). *Principios de neurociencias-5*. AMGH Editora.
- Laczó, B., Antal, A., Rothkegel, H., & Paulus, W. (2014). Increasing human leg motor cortex excitability by transcranial high frequency random noise stimulation. *Restorative neurology and neuroscience*, 32(3), 403-410.
- Mahmud, M., & Vassanelli, S. (2016). Differential modulation of excitatory and inhibitory neurons during periodic stimulation. *Frontiers in neuroscience*, 10.
- Moliadze, V., Antal, A., & Paulus, W. (2010). Boosting brain excitability by transcranial high frequency stimulation in the ripple range. *The Journal of physiology*, 588(24), 4891-4904.
- Moliadze, V., Antal, A., & Paulus, W. (2010). Electrode-distance dependent after-effects of transcranial direct and random noise

stimulation with extracephalic reference electrodes. *Clinical Neurophysiology*, 121(12), 2165-2171.

- Moliadze, V., Atalay, D., Antal, A., & Paulus, W. (2012). Close to threshold transcranial electrical stimulation preferentially activates inhibitory networks before switching to excitation with higher intensities. *Brain stimulation*, 5(4), 505-511.
- 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.
- Mountcastle, V. B., Talbot, W. H., Darian-Smith, I., & Kornhuber, H. H. (1967). Neural basis of the sense of flutter-vibration. *Science*, 155(3762), 597-600.
- Nitsche, M. A., & Paulus, W. (2000). Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *The Journal of physiology*, 527(3), 633-639.
- Ozen, S., Sirota, A., Belluscio, M. A., Anastassiou, C. A., Stark, E., Koch, C., & Buzsáki, G. (2010). Transcranial electric stimulation entrains cortical neuronal populations in rats. *Journal of Neuroscience*, 30(34), 11476-11485.
- Palm, U., Hasan, A., Keeser, D., Falkai, P., & Padberg, F. (2013). Transcranial random noise stimulation for the treatment of negative symptoms in schizophrenia. *Schizophrenia research*, 146(1), 372-373.
- Paulus, W. (2011). Transcranial electrical stimulation (tES–tDCS; tRNS, tACS) methods. *Neuropsychological rehabilitation*, 21(5), 602-617.

- Remedios, L., Mabil, P., Flores-Hernández, J., Torres-Ramírez, O., Huidobro, N., Castro, G., ... & Manjarrez, E. (2019). Effects of Short-Term Random Noise Electrical Stimulation on Dissociated Pyramidal Neurons from the Cerebral Cortex. *Neuroscience*, 404, 371-386.
- Ripoll, D. R. (2010). *Fundamentos de psicobiología* (Vol. 147). Editorial UOC.
- Saiote, C., Polanía, R., Rosenberger, K., Paulus, W., & Antal, A. (2013). High-frequency TRNS reduces BOLD activity during visuomotor learning. *PloS one*, 8(3), e59669.
- Saito, K., Otsuru, N., Inukai, Y., Miyaguchi, S., Yokota, H., Kojima, S., ... & Onishi, H. (2019). Comparison of transcranial electrical stimulation regimens for effects on inhibitory circuit activity in primary somatosensory cortex and tactile spatial discrimination performance. *Behavioural brain research*, 375, 112168.
- Salinas, E., Hernandez, A., Zainos, A., & Romo, R. (2000). Periodicity and firing rate as candidate neural codes for the frequency of vibrotactile stimuli. *Journal of neuroscience*, 20(14), 5503-5515.
- Snowball, A., Tachtsidis, I., Popescu, T., Thompson, J., Delazer, M., Zamarian, L., ... & Kadosh, R. C. (2013). Long-term enhancement of brain function and cognition using cognitive training and brain stimulation. *Current Biology*, 23(11), 987-992.
- Terney D., Chaieb, L., Moliadze, V., Antal, A., Paulus, W., (2008). Increasing human brain excitability by transcranial high-frequency random noise stimulation. *J Neurosci* 28, 14147–14155.

- Van Doren, J., Langguth, B., & Schecklmann, M. (2014). Electroencephalographic effects of transcranial random noise stimulation in the auditory cortex. *Brain stimulation*, 7(6), 807-812.
- Van der Groen, O., & Wenderoth, N. (2016). Transcranial random noise stimulation of visual cortex: stochastic resonance enhances central mechanisms of perception. *Journal of Neuroscience*, 36(19), 5289-5298.
- Zilles, K. (1992). Neuronal plasticity as an adaptive property of the central nervous system. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 174(5), 383-391.

Apéndice

Tabla A1 con los datos organizados de los 10 sujetos con los niveles para el análisis estadístico y la elaboración de figuras.

		RATA 1	RATA 2	RATA 3	RATA 4	RATA 5	RATA 6	RATA 7	RATA 8	RATA 9	RATA 10
Tiempo	Nivel	170608	170807	170915	171016	171020	171023	171030	180110	180112	180117
	N1	173.64	67.44	16.28	85.233333	7.98	73.166667	152.38	108.25	111.51143	87.275
	N2	208.14	60.12	17.28	96.413333	9.1	107.38	98.7	251.04	211.73143	164.46
	N3	195	200.5	66.78	205.64667	16.84	145.24667	306.7	598.24	336.44571	271.575
	N4	184.08	407.96	134.04	418.18	97.66	311.25333	363.43	903.93	383.54571	306.545
	N5	172.06	411.74	178.42	543.54667	155.88	528.16	533.05	1062.75	403.71714	386.34
	N6	258.6	529.22	233.88	583.73333	139.96	635.06667	655.73	1061.67	433.43143	442.64
	antes	N7	309.44	618.16	439.7	844.38	172.3	600.21333			
0	N1	346.8	25.14	104.8	138.44	16.36	126.27	102.67	56.98	102.52667	97.893333
	N2	261.06	102.92	65.38	93.26	41.52	75.01	154.97	138.76	138.49333	161.12667
	N3	292.84	461.9	52.86	573	89.1	330.38	222.56	562.26	240.82667	205.10667
	N4	222.66	372.06	182.06	783.76	179.02	457.55	400.69	552.7	197.63333	321
	N5	275.02	425.84	208.86	711.3	284.78	851.19	852.84	799.66	286.84	377.44
	N6	262.62	590.94	184.08	409.62	298.34	1076.63	893.28	1235.53	279.56667	499.69333
	N7	236.1	396.92	330.56	1051.58	491.82	901.06				
10	N1	217.58	94	131.6	63.72	21.36	31.6	151.655	94.16	182.22	94.953333
	N2	267.56	142.46	71.16	96.98	34.96	81.18	152.495	347.08	204.12	207.53
	N3	320.98	401.36	155.76	490.72	69.76	847	456.495	670.19	251.92	313.155
	N4	322.14	296.08	180.54	675.72	206.18	942.44	702.235	864.85	373.76	389.19
	N5	351.56	472.46	457.16	699.96	300.98	543.64	1163.07	1044.13	302.39	507.655
	N6	360.48	613.82	355.4	949.16	404.66	970.64	1339.5	1393.33	388.59	485.75
	N7	292.24	687.76	332.7	698.06	539.12	1464.72				
20	N1	256.9	19.48	NaN	25.82	52.18	73.03	116.37	135.1	295.85333	91.565
	N2	354.38	210.58	NaN	204.78	46.88	117	366.36	475.61	286.68	239.42
	N3	330.5	500.84	NaN	397.54	80.38	530.33	259.15	1055.36	522.46667	263.935
	N4	349.32	624.34	NaN	731.86	166.2	1036.58	678.56	965.27	574.23333	433.89
	N5	417.66	717.24	NaN	617.92	202.08	1300.62	762.18	1428.56	620.48667	430.65
	N6	170.12	772.76	NaN	996.46	359.74	1387.99	963.44	1593.82	613.87333	524.535
	N7	213.62	724.66	NaN	790.94	347.9	1734.8				
30	N1	223.88	NaN	114.26	81.74	64.94	131.8	145.18667	127.42	227.84667	136.23333
	N2	426.46	NaN	215.52	56.52	31.02	23.8	379.42667	369.63	436.1	321.30667
	N3	451.42	NaN	200.68	227.18	110.42	888.9	340.69333	1062.5	508.11333	367.8
	N4	516.1	NaN	278.2	677.24	253.54	1121.2	598.71333	1068.75	629.25333	354.95333
	N5	550.54	NaN	237	627.7	233.16	1536.9	669.53333	1542.21	646.80667	540.31333
	N6	338.26	NaN	198	843.46	415.4	1685.2	1048.6133	1560.1	725.83333	635.57333
	N7	360.34	NaN	188.3	931.52	597.76	1492.9				
40	N1	385.32	101.08	91.56	53.54	14.78	54.155175	205.17333	97.75	248.69333	215.65333
	N2	575.14	116.2	177.9	361.82	10.94	179.15	411.45333	599.33	423.68667	318.89333
	N3	496.04	298.64	224.5	504.34	184.02	1079.4	293.92667	912.87	577.63333	248.06667
	N4	548.28	774.16	294.86	689.22	122.26	1029.7	396.96667	1203.38	669.64667	258.66
	N5	592.22	712.1	415.4	1050.84	359.08	1587.25	662.89333	1419.44	705.52667	393.17333
	N6	509.1	803.4	418.88	849.84	368.72	1575.65	1031.74	1713.71	713.74667	595.11333
	N7	473.88	596.8	541.46	774.42	453.98	1723.05				
50	N1	512.88	23.14	71.54	159.42	22.34	51.9	126.65333	167.06	202.26	58.95
	N2	512.88	194.46	33.2	183.1	22.28	166.3	134.15333	331	384.34	133.025
	N3	688.6	256.04	159.84	411	106.86	151.1	205.9	1146.24	589.42	173.92
	N4	652.88	487.86	148.92	591.8	166.2	630.2	378.68667	1230.34	637.02	194.915
	N5	634.04	455.5	221.68	809.02	184.02	906.6	718.1	1480.54	637.58	218.465
	N6	657.6	530.46	335.76	842.78	215.94	1011.1	703.36667	1506.16	680.16	298.14
	N7	683.22	589.48	502.82	1102.9	307.86	1142.9				

Tabla A1. Datos de los 10 sujetos experimentales usados en la presente tesis.

En la **Figura A1**, se muestra la interfaz del programa computacional para el análisis de curvas entrada-salida de la amplitud pico a pico de los potenciales provocados de acuerdo con el objetivo 2 de la presente tesis. El programa permite cargar uno o varios archivos *.abf obtenidos con el programa Axoscope 10.7. Una vez cargados los datos, se pueden seleccionar los archivos, canales y sweeps de interés para la medición de los potenciales provocados. Los datos son salvados en una tabla que posteriormente puede ser exportada a una hoja de datos para su análisis estadístico.

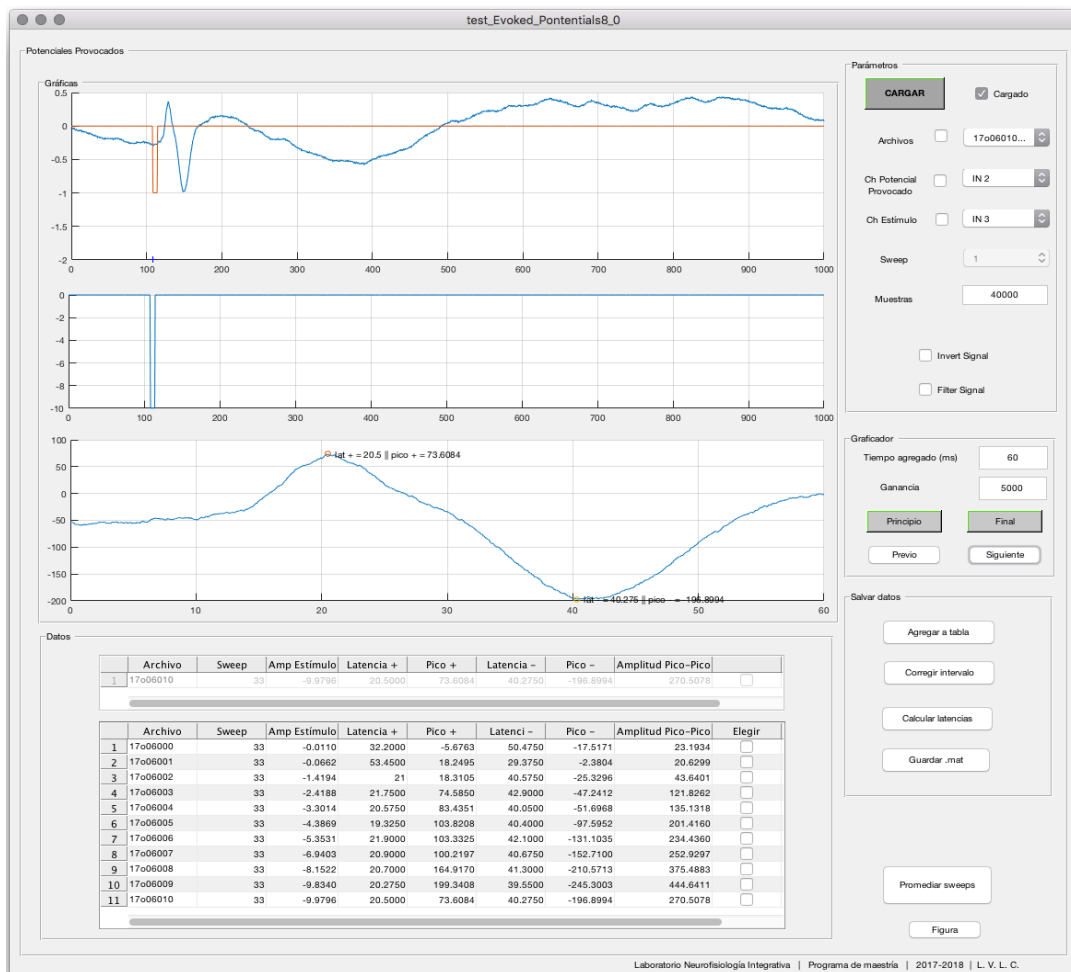


Figura A1. Interfaz del programa computacional para el análisis de curvas entrada-salida de la amplitud pico a pico de los potenciales provocados.