



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Medicina  
Licenciatura en Biomedicina

Instituto de Fisiología  
Laboratorio de Neurofisiología Integrativa

Efectos de la fotoestimulación optogenética ruidosa en la corteza de los barriles sobre la amplitud de los potenciales provocados somatosensoriales en el ratón transgénico Thy-ChR2-YFP

Tesis

Para obtener el grado de:  
Licenciado en Biomedicina

Presenta:  
Abraham Méndez Fernández

Director experto:  
DC. Elías Manjarrez López

Director metodológico:  
DC. Ignacio Méndez Balbuena

Puebla 2016

## Índice

	Página
<b>1. Lista de Abreviaturas</b>	<b>iii</b>
<b>2. Resumen</b>	<b>v</b>
<b>3. Antecedentes</b>	<b>1</b>
<b>3.1. Antecedentes generales</b>	<b>1</b>
3.1.1. La vía trigémino-talámico-cortical en el roedor	1
3.1.1.1. Las vibrisas	1
3.1.1.1.1. Descripción de las vibrisas	1
3.1.1.1.2. Nomenclatura de las vibrisas	2
3.1.1.1.3. Movimientos de las vibrisas	3
3.1.1.2. Barriles	5
3.1.1.2.1. Descripción de los barriles	5
3.1.1.2.2. Desarrollo de los barriles	7
3.1.1.2.3. Las vibrisas y los barriles guardan una relación uno a uno	8
3.1.1.3. Barreloides	9
3.1.1.3.1. Descripción de los barreloides	9
3.1.1.3.2. Proyecciones tálamo-corticales	10
3.1.1.4. Ganglio y núcleos trigeminales	11
3.1.1.4.1. Ganglio trigeminal	11
3.1.1.4.2. Núcleos trigeminales	11
3.1.1.4.3. Proyecciones trigémino-talámicas	12
3.1.2. Optogenética	14
3.1.2.1. Canalrodopsina 2	14
3.1.2.2. Ratones Thy1.2-ChR2-EYFP	16
3.1.3. Resonancia estocástica	18
3.1.3.1. Ruido	18
3.1.3.2. Descripción del fenómeno de resonancia estocástica	19
3.1.3.3. Caracterización de la resonancia estocástica	20
3.1.3.4. Resonancia estocástica en sistemas físicos	21
3.1.3.5. Resonancia estocástica en los sistemas sensoriales	22
<b>3.2. Antecedentes específicos</b>	<b>24</b>
3.2.1. Resonancia estocástica de modalidades cruzadas	24

<b>4.</b>	<b>Planteamiento del problema</b>	<b>26</b>
<b>5.</b>	<b>Hipótesis</b>	<b>27</b>
<b>5.1.</b>	<b>Hipótesis Científica</b>	<b>27</b>
<b>5.2.</b>	<b>Hipótesis Estadística</b>	<b>27</b>
<b>6.</b>	<b>Objetivos</b>	<b>28</b>
6.1.	Objetivo General	28
6.2.	Objetivos Particulares	28
<b>7.</b>	<b>Material y métodos</b>	<b>29</b>
7.1.	Selección de la muestra	29
7.2.	Aclaraciones bioéticas	29
7.3.	Técnicas y procedimientos	29
7.4.	Análisis de los datos	32
7.4.1.	Medición de los potenciales registrados	32
7.4.2.	Pruebas estadísticas	33
<b>8.</b>	<b>Resultados</b>	<b>34</b>
<b>9.</b>	<b>Discusión</b>	<b>45</b>
<b>10.</b>	<b>Conclusión</b>	<b>49</b>
<b>11.</b>	<b>Anexos</b>	<b>50</b>
11.1.	Prueba de Friedman	50
11.2.	Prueba de Wilcoxon	53
<b>12.</b>	<b>Bibliografía</b>	<b>57</b>

## 1. Lista de abreviaturas

Ag	Plata
AgCl	Cloruro de Plata
°C	Centígrados
Ca <sup>2+</sup>	Catión Calcio
ChR2	Canalrodopsina 2
Cs	Cesio
G12	Día gestacional 12
G18	Día gestacional 10
H <sup>+</sup>	Catión Hidrógeno
Hz	Herz (s <sup>-1</sup> )
I <sub>0</sub>	Corriente transitoria
I <sub>∞</sub>	Corriente en el estado estable
K <sup>+</sup>	Catión Potasio
kg	Kilogramo (10 <sup>3</sup> g)
KHz	Kilohertz (10 <sup>3</sup> Hz)
LED	Diodo Emisor de Luz
Li	Litio
mg	Miligramo (10 <sup>-3</sup> g)
mm	Milímetro (10 <sup>-3</sup> m)
mV	Milivoltio (10 <sup>-3</sup> V)
Na <sup>+</sup>	Catión Sodio
nm	Nanómetro (10 <sup>-9</sup> m)
NMG	N-Metil D-Glucamina
O1 electrodos 10-20	Posición occipital 1 del sistema de posicionamiento de
O <sub>1</sub>	Estado abierto 1 de la Canalrodopsina 2
O <sub>2</sub>	Estado abierto 2 de la Canalrodopsina 2
P-0	Día postnatal cero

P-1	Día postnatal uno
P-6	Día postnatal seis
P100	Componente positivo del potencial relacionado a evento, que ocurre con una latencia de 100 milisegundos
pH	Potencial de Hidrógeno
PMBSF	Subcampo posteromedial de la corteza de los barriles
Pr5	Núcleo principal del trigémino
RA	Ruido Alto
Rb	Rubidio
RC	Ruido Cero
RO	Ruido Óptimo
S1	Corteza Somatosensorial Primaria
SNR	Relación Señal-Ruido
TM	Segmento transmembranal
XCl	Cloruro de X
YFP	Proteína Fluorescente Amarilla
$\mu\text{m}$	Micrometro ( $10^{-6}$ m)
$\mu\text{RO}$	Media de los potenciales provocados en la situación de ruido óptimo
$\mu\text{RA}$	Media de los potenciales provocados en la situación de ruido alto
$\mu\text{RC}$	Media de los potenciales provocados en la situación de ruido cero

## 2. Resumen

Desde finales de la década del 2000 se han desarrollado modelos animales portadores de transgenes microbianos, cuyas células son capaces de emitir una respuesta eléctrica ante la incidencia de luz. El ratón Thy-ChR2-YFP de la línea 18, que expresa la proteína Canalrodopsina-2 (una molécula de la mancha ocular del alga *Chlamydomonas reinhardtii*), es, de estos modelos, el más popular. La precisión temporal y espacial de la fotoestimulación que ofrecen estas técnicas, han hecho que estos animales sean ampliamente utilizados para el estudio de los fenómenos del sistema nervioso. Esta tesis ofrece evidencia del fenómeno de resonancia estocástica (el fenómeno contra intuitivo del aumento de la probabilidad de la detección de una señal débil en un sistema, ante la presencia de ruido) en la actividad eléctrica de la corteza de los barriles del ratón Thy-ChR2-YFP. Se utilizaron seis ratones transgénicos (Thy-ChR2-YFP), y cinco ratones silvestres cuyo peso fue de  $41.2 \pm 8.6$  g y  $32.31 \pm 2.7$  g, respectivamente. Fue registrado en estos animales, el potencial provocado por la estimulación de las vibrisas. La latencia al pico de esta respuesta fue de  $44.21 \pm 8$  ms para el grupo de ratones transgénicos y de  $44.30 \pm 12$  ms para el grupo de ratones silvestres. Se encontraron diferencias significativas en la amplitud del pico del potencial provocado somatosensorial, debidas a la fotoestimulación ruidosa de la corteza de los ratones transgénicos, mientras ningún efecto de este tipo fue encontrado en los animales silvestres.

### **3. Antecedentes**

#### **3.1. Antecedentes generales**

##### **3.1.1. La vía trigémino-talámico-cortical en el roedor**

###### **3.1.1.1. Las vibrisas**

###### **3.1.1.1.1. Descripción de las vibrisas**

Las vibrisas son órganos sensoriales, que consisten en pelos especializados con función sensorial, y que están ubicados en distintos sitios de la cabeza de algunos mamíferos, entre estos, el ratón. Las vibrisas ubicadas en el labio superior tienen una organización más constante entre un individuo y otro de la misma especie. Estas vibrisas son numerosas y largas en el ratón y en la rata, y nacen de una almohadilla engrosada en el labio superior (Danforth, 1925). Además, los roedores cuentan con vibrisas faciales de otros tipos, por ejemplo las vibrisas interramales, situadas debajo de la barbilla, las “genales” que se localizan entre el canto superior y la base de la oreja, y las superciliares que se encuentran sobre los arcos superciliares (Pocock, 1914).

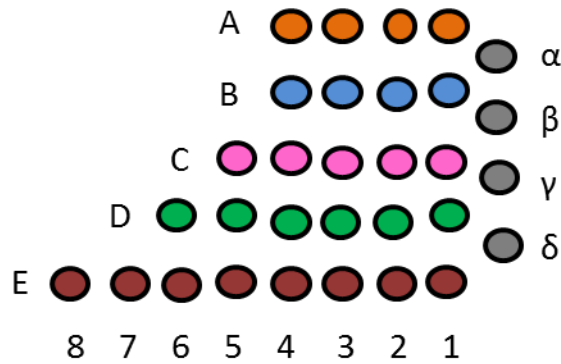
Las vibrisas suelen ser más largas y fuertes en los roedores adultos machos que en las hembras, y se distinguen de otros pelos por contar con senos sanguíneos y musculatura estriada. También suelen ser más gruesos y largos que los pelos no sensoriales. Además, el folículo de la vibrisa cuenta con otras características distintivas, como son, un seno arterial superior, también llamado seno anular, y un seno venoso inferior. El seno venoso está constituido por cordones de tejido conectivo que encierran cavidades. En el tercio superior del folículo se abre el conducto de la glándula sebácea asociada al folículo. La arteria folicular entra junto al nervio folicular en el tercio inferior del folículo, por debajo del seno venoso. La arteria entonces se divide en un ramo inferior y varios superiores que vierten su contenido en el seno arterial. En la parte más profunda del folículo yace la papila, densamente irrigada e innervada.

Las vibrisas también difieren de otros pelos en cuanto a la etapa en la que se desarrollan. Las vibrisas se desarrollan antes que cualquier otro pelo. En el día gestacional 12, G-12, comienzan a formarse los folículos de los que nacen las vibrisas. Las vibrisas han emergido ya de la piel en el día gestacional 18, G-18 (Davidson y Hardy, 1952; Vincent, 1913).

En los roedores, las vibrisas funcionan como delicados órganos sensoriales de los que dependen el equilibrio, la locomoción y la discriminación entre superficies. Cuando estos órganos se retiran del animal, se entorpece el aprendizaje de tareas, como la de recorrer un laberinto o discriminar entre superficies. Por otra parte, cuando la rama maxilar del nervio trigémino se lesiona, se observa un comportamiento particular de la rata en un laberinto sin paredes. El animal aplana su cuerpo contra el suelo, e intenta hacer contacto con los bordes de los pasillos por medio de sus dedos y de su labio inferior (Vincent, 1912).

#### **3.1.1.1.2. Nomenclatura de las vibrisas**

Las vibrisas se organizan en el labio superior de los roedores en filas y arcos. Zucker y Welker en 1969 nombraron a la fila más dorsal como fila A, a la segunda como B, y de una manera similar a las otras filas, hasta la quinta fila, que se designó como E, la más ventral. Las vibrisas más caudales de cada fila conforman el primer arco, las inmediatamente rostrales al primer arco, son parte del segundo arco, y de una manera similar hasta el octavo arco. Para indicar una vibrisa en particular, se escribe la fila a la que pertenece seguida del arco del que forma parte. Por ejemplo, A4 es la vibrisa de la fila A y del cuarto arco. Además, existen cuatro vibrisas más caudales que se encuentran, cada una, en los espacios entre dos filas contiguas. Estas vibrisas de dorsal a ventral se nombran como  $\alpha$  (aquella entre las filas A y B),  $\beta$  (aquella entre B y C),  $\gamma$  (aquella entre C y D) y  $\delta$  (aquella entre D y E), (Figura 1). Las filas A y B están conformadas por cuatro vibrisas cada una, la fila C, por cinco, las filas D y E por lo menos por ocho (Zucker y Welker, 1969).



**Figura 1. Disposición espacial que tienen los folículos de las vibrisas del labio superior izquierdo del ratón.** Nótese la organización en filas y arcos. El tamaño de las vibrisas decrece mientras más rostrales son estas. Nótese también que el número de vibrisas por fila varía, habiendo un número mayor en las filas más ventrales, E y D. *Modificada de Chen-Bee y cols., 2012.*

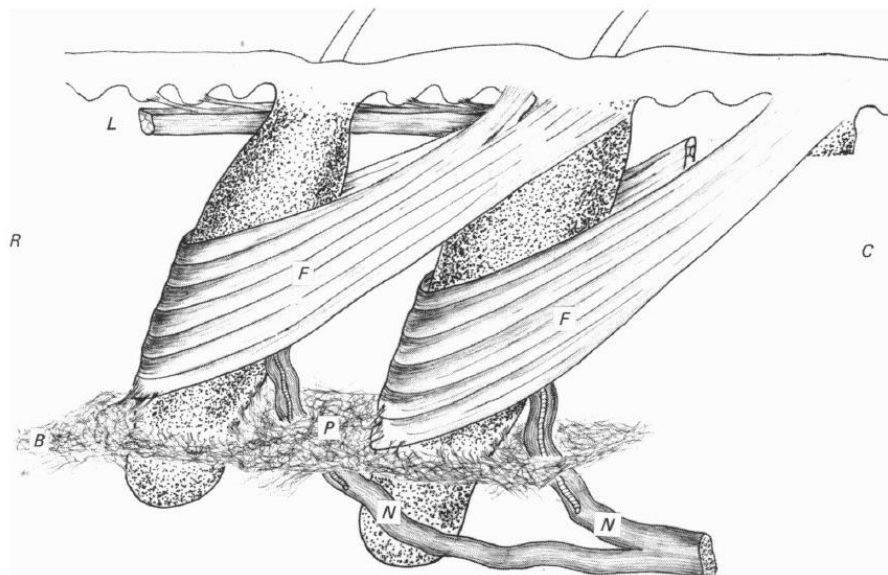
### 3.1.1.1.3. Movimientos de las vibrisas

La rata realiza un conjunto de movimientos durante la exploración de un objeto, que promueven la percepción olfativa y táctil. Estos movimientos ocurren en dos fases, alternada y cíclicamente. En la primera fase de exploración, el roedor aproxima la cabeza y las vibrisas al objeto en cuestión, a la vez que inhala. En la segunda fase, retira la cabeza y las vibrisas, a la vez que exhala. Este patrón ocurre con una frecuencia de entre 5 y 11 Hz, y con una duración que va de 1 a 10 segundos. La duración de este patrón puede verse alterada de acuerdo a la naturaleza del objeto que examina el animal. Por ejemplo, si el objeto es considerado nocivo, la duración se reducirá, y el animal interrumpirá la exploración. Un comportamiento parecido se observa en el ratón, en el jerbo y en la chinchilla (Welker, 1964).

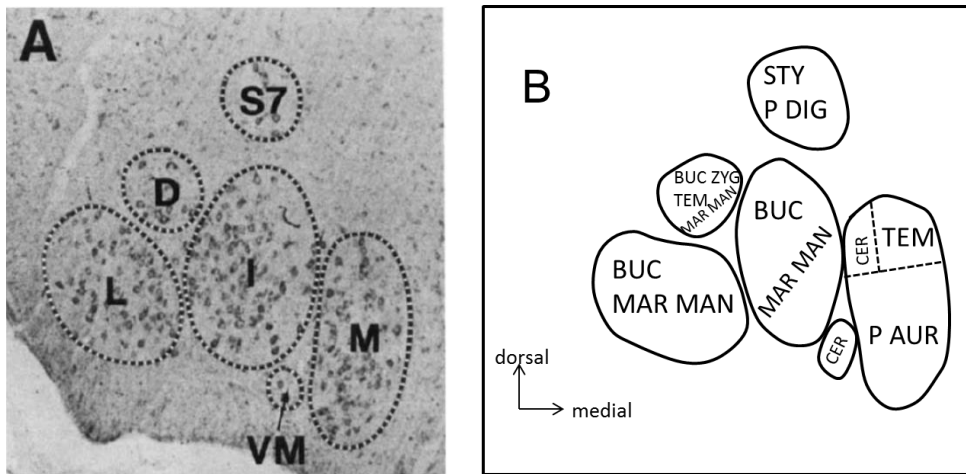
El movimiento de las vibrisas del labio superior del ratón está gobernado por la musculatura intrínseca y extrínseca de las vibrisas. La protracción de las vibrisas, que caracteriza a la primera fase de la exploración, depende de la contracción del músculo nasal (extrínseco) y de los músculos foliculares (intrínsecos). Los músculos foliculares se extienden desde uno de los folículos al folículo inmediatamente caudal ubicado en la misma fila de vibrisas (Figura 2). La retracción de las vibrisas, llevada a cabo durante la segunda fase es consecuencia del retorno elástico de una banda fibrosa que une folículos adyacentes en una misma fila. Dicha banda se encuentra

tenza en la segunda fase, debido al movimiento de los folículos de la fase precedente (Dörfl, 1982).

Los movimientos de las vibrisas se abolen al seccionar la rama bucal del nervio facial, o la división superior de la rama mandibular marginal del mismo nervio. Semba y Egger en 1986 observaron que dichos ramos del nervio facial nacen en los subnúcleos dorsal, intermedio y lateral del núcleo facial en el bulbo raquídeo de la rata (Figura 3). Las células a las que pertenecen estos ramos representan aproximadamente la mitad de la población celular en el núcleo facial. Esto último refleja la importancia de los movimientos nasolabiales en el roedor (Semba y Egger, 1986).



**Figura 2. Par de folículos adyacentes en una misma fila.** Se pueden observar los músculos foliculares (F). Estos músculos tienen una porción arciforme que rodea la parte anterior e inferior de un folículo y se extienden e insertan en las partes medial y lateral de la porción superior del folículo inmediatamente caudal al primer folículo. Los folículos se encuentran unidos por sus partes más profundas por bandas fibrosas (B). P es una placa que es parte de las bandas fibrosas y que une a los folículos. N es el nervio folicular. L es un haz de un músculo extrínseco. R es rostral y C, caudal. Tomada de Dörfl, 1982.



**Figura 3. Origen de los ramos del nervio facial en los distintos núcleos de este nervio. A.** Corte coronal teñido con tiónina que pasa por el núcleo facial izquierdo de la rata. Se observan los cinco subnúcleos en los que se puede dividir el núcleo facial. D representa al subnúcleo dorsal, I al intermedio, L al lateral, M al medial, S7 al suprafacial y VM al ventromedial. **B.** Mismo núcleo que el de la figura A, con las ramas del nervio facial a las que da origen cada subnúcleo. BUC es bucal, CER es cervical, MAR MAN es mandibular marginal, P AUR es auricular posterior, P DIG es posterior digástrica, STY es estiloidea, TEM es temporal, ZYG es cigomática. Nótese que los subnúcleos de los que nacen las ramas bucal y mandibular marginal son el dorsal, el intermedio y el lateral. *Modificada de Semba y Egger, 1986.*

Como se describirá a continuación, las vibrisas cuentan con una representación organizada en el sistema nervioso central. De esta manera, es posible encontrar en el sistema nervioso central, estructuras discretas con las que se corresponden las vibrisas, en relación uno a uno. Las primeras de estas estructuras que fueron descritas fueron los “barriles”, y en analogía a estas, las subsiguientes estructuras encontradas recibieron los nombres de barreloides (tálamo) y barreletes (núcleos del V par craneal).

### 3.1.1.2. Barriles

#### 3.1.1.2.1. Descripción de los barriles

La corteza somatosensorial primaria (S1) está funcionalmente constituida por columnas que se extienden perpendiculares a la superficie de esta corteza. Estas columnas están conformadas por células asociadas a la misma modalidad de estimulación. Además, las neuronas halladas en estas columnas están relacionadas con el mismo o casi el mismo campo receptivo en la superficie corporal (Mountcastle,

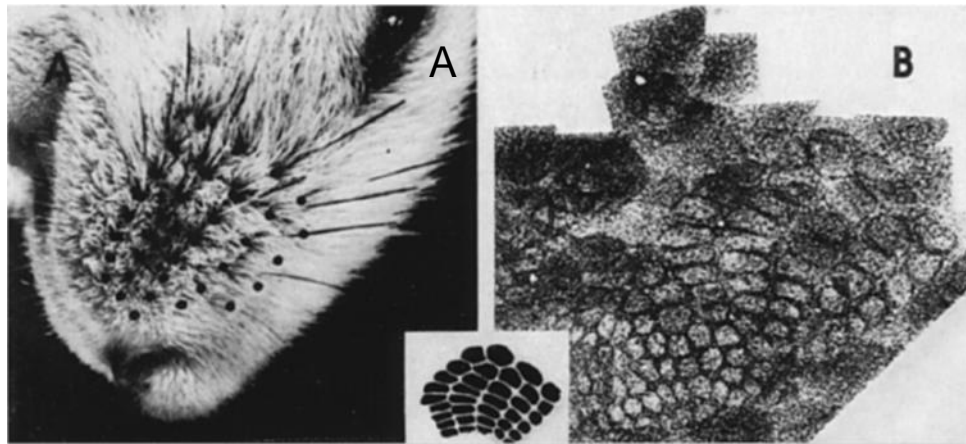
1957). De manera similar, la corteza visual primaria del mono se organiza en columnas de dominancia ocular (Hubel y Wiesel, 1969). Esto lleva a pensar en la naturaleza columnar de la organización cortical en general.

Woolsey y Van der Loos en 1970 observaron en la corteza somatosensorial del ratón estructuras multicelulares que nombraron barriles. Ellos propusieron que los barriles eran la manifestación morfológica de las columnas en las que la corteza somatosensorial primaria del ratón se organiza. Estos investigadores fueron los primeros en sugerir que cada vibrisa se correspondía con un solo barril en S1 contralateral del ratón.

Cada barril consiste en un anillo de alta densidad celular que se extiende por toda la capa IV de la corteza, el "margen". Este anillo rodea un espacio de escasa densidad celular, el "hueco". Observadas en un corte coronal, estas estructuras se ensanchan en su parte media y se estrechan en los extremos. A estas estructuras fueron nombrados barriles, debido a su estructura tridimensional. En el subcampo posteromedial de esta zona, los barriles son de mayores dimensiones y se disponen de forma más regular, en comparación con los barriles de otras áreas.

Woolsey y Van der Loos sugirieron que los barriles del subcampo posteromedial de la corteza somatosensorial se corresponden con las macrovibrisas, por su número (34-40) y organización semejantes (Figura 4).

Poco después, Welker en 1971, empleó microelectrodos para el registro de las células en S1 y llegó a la misma conclusión que Woolsey y Van der Loos. La representación de las vibrisas de la rata consiste en cúmulos celulares discretos localizados en la corteza somatosensorial contralateral, y que se organizan de manera homeomórfica a dichas vibrisas. También observaron que los campos receptivos más pequeños de la región facial son aquellos localizados en las regiones más rostrales. Estas son las áreas próximas al "rinario" (la piel sin pelo alrededor de las narinas), los labios superior e inferior y las vibrisas (Welker, 1971).



**Figura 4. Similitud en el número y en la organización que comparten las vibrisas del labio superior del ratón y los barriles del subcampo posteromedial de la corteza de los barriles (PMBSF).** A. Fotografía de la mitad derecha del hocico de un ratón. Las vibrisas se organizan en cinco filas, compuestas por cuatro a siete de estos órganos. B. "Collage" que muestra un corte tangencial de la corteza de los barriles en el lóbulo parietal izquierdo. Entre A y B, un dibujo del PMBSF izquierdo. *Tomada de Woolsey y Van der Loos, 1970.*

### 3.1.1.2.2. Desarrollo de los barriles

Van der Loos y Woolsey en 1973 notaron que el ratón maduro poseía anomalías en la corteza de los barriles cuando provocaban lesiones en los folículos de las vibrisas del animal al momento del nacimiento. Observaron la ausencia del desarrollo del barril correspondiente a la vibrisa retirada (Van der Loos y Woolsey, 1973)

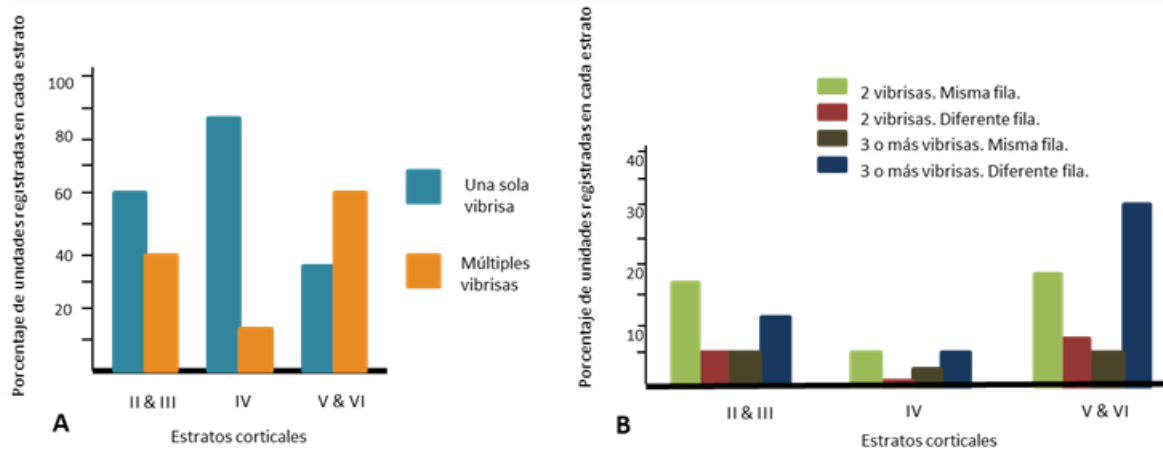
La etapa crítica del desarrollo de los barriles comienza en el día del nacimiento del ratón (día P-0), y se extiende hasta el sexto día posnatal, P-6. La gravedad de las aberraciones en la corteza de los barriles, provocadas por una lesión en los folículos depende del día en el que se practique dicha lesión. Si la lesión folicular en toda la fila C es ocasionada en el día P-1, hay una completa ausencia de los barriles correspondientes (aquellos de la fila C). Si una lesión similar ocurre en el día P-0, se forma una estructura parecida a un barril en toda la región de la fila C. Este barril tiene márgenes y septos. En ambos casos los barriles de las filas adyacentes (B y D en este ejemplo) son anormalmente grandes. Si la lesión ocurre después de la etapa crítica, las alteraciones son imperceptibles (Jeanmonod y cols., 1981).



**Figura 5. Organización de la corteza somatosensorial primaria del ratón.** A la izquierda se muestra la corteza somatosensorial primaria dividida en subcampos de varios colores. El subcampo posteromedial de los barriles (PMBSF), el subcampo anterolateral de los barriles (ALBSF), los miembros posteriores (HP), los miembros anteriores (FP), la mandíbula inferior (LJ) y el tronco y el resto del cuerpo (T). Al centro yace una reconstrucción del cuerpo del ratón en la que es proporcional cierta parte del cuerpo al área que ocupa en S1. A la derecha se muestra el cuerpo de un ratón de dimensiones normales. Nótese la extensa área ocupada por los barriles (PMBSF y ALBSF). *Modificada de Zembrzycki y cols., 2013.*

### 3.1.1.2.3. Las vibrisas y los barriles guardan una relación uno a uno

En 1978, Simons describió la respuesta de las neuronas localizadas en la corteza somatosensorial primaria de la rata ante la estimulación de las vibrisas. La mayor parte de las neuronas en la capa cortical IV se activa ante la deflexión de únicamente una vibrisa, la “principal”. Sin embargo, una parte de la población neuronal responde también ante la estimulación de dos o más vibrisas. Estas vibrisas tienden a estar en la misma fila en la que se halla la vibrisa principal. En las capas corticales II y III, así como en V y VI, estas neuronas responsivas ante la estimulación de múltiples vibrisas son más numerosas. Las células en las capas V y VI se activan por la estimulación de un mayor número de vibrisas. Estas vibrisas no necesariamente se encuentran en la misma fila, sino que pueden estar localizadas en filas distantes (Figura 6).



**Figura 6. Histogramas de las células que responden ante la estimulación de diferentes combinaciones de vibrisas.** **A.** Histograma que muestra los porcentajes de células en cada estrato cortical que responden a la estimulación de una o más vibrisas. Se puede notar que el 85% de las células encontradas en la capa IV responden a la estimulación de una sola vibrisa. **B.** Histograma que muestra los porcentajes de células en cada estrato que responden a la estimulación de dos o tres vibrisas. También evidencia si estas vibrisas se hallan en la misma fila o en diferentes filas. *Modificada de Simons, 1978.*

### 3.1.1.3. Barreloides

#### 3.1.1.3.1. Descripción de los barreloides

En el tálamo ventrobasal se encuentran estructuras similares a los barriles. Estas estructuras se llaman barreloides. Se organizan al igual que los barriles del subcampo posteromedial, en filas y arcos. El tamaño de los barreloides decrece conforme estas estructuras son más cercanas a la línea media (Van der Loos, 1976).

Las vibrisas más caudales, que son las más grandes, están representadas en la zona lateral del núcleo ventral posteromedial talámico, y las vibrisas más rostrales, en el sitio medial del mismo núcleo. Las vibrisas más dorsales (fila A) se corresponden con la región posterior de este núcleo y las más ventrales (fila E) con la región anterior. Un barreloide recibe proyecciones de los núcleos del trigémino ubicados en el tallo cerebral. Las proyecciones que recibe un barreloide, que son más próximas a la línea media, se encuentran en una posición más dorsal con respecto a aquellas más alejadas de la línea media. Otra tendencia es que las



### **3.1.1.4. Ganglio y núcleos trigeminales**

#### **3.1.1.4.1. Ganglio trigeminal**

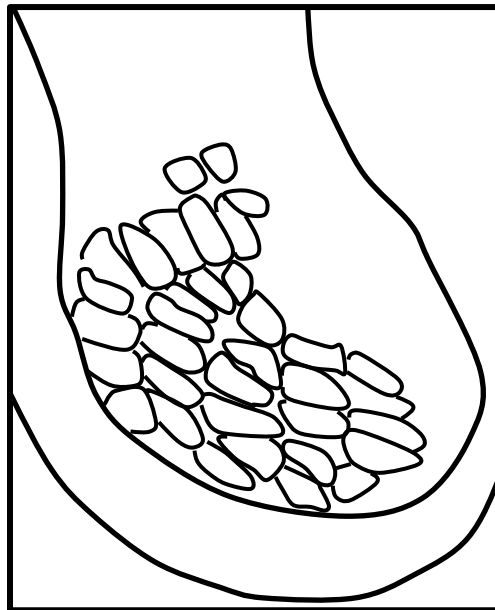
Las células ubicadas en el ganglio trigeminal son las neuronas aferentes primarias de la vía trigémino-talámico-cortical. En el ganglio trigeminal, los campos receptivos de las vibrisas están organizados somatotópicamente. Las vibrisas más dorsales (Filas A, B) se inervan por zonas mediales del ganglio, mientras que las vibrisas más ventrales (Filas D, E) se inervan por las regiones más laterales del mismo ganglio. Las vibrisas más caudales (arcos 1, 2, 3) se inervan por los sitios más dorsales y las vibrisas más rostrales, por puntos más ventrales del ganglio trigeminal (Zucker y Welker, 1969).

#### **3.1.1.4.2. Núcleos trigeminales**

Las células aferentes primarias del ganglio trigeminal tienen sus terminaciones en los núcleos del complejo trigeminal del tallo cerebral. Las terminaciones se ubican en el “hueco” de estructuras conocidas como barreletes. Estas estructuras están conformadas por columnas celulares que representan a los órganos sensoriales periféricos, las vibrisas. Los huecos son regiones de los barreletes con baja densidad de somas neuronales. Los huecos están rodeados por los márgenes, de una densidad poblacional mayor. Los barreletes pueden ser apreciados en los núcleos trigeminales principal, interpolar y caudal, pero no en el núcleo oral.

Los barreletes se ubican en la parte ventral del núcleo principal del trigémino. Observadas en el plano transversal, estas estructuras se organizan en cinco filas. En un corte coronal se puede advertir que se extienden rostrocaudalmente sin cambiar su forma de manera evidente. En los huecos se extienden los árboles dendríticos de las neuronas, cuyos somas están ubicados en los márgenes. Estos árboles dendríticos generalmente se extienden rostrocaudalmente sin abandonar el hueco del barrelete; sin embargo, se pueden encontrar células con árboles dendríticos que se extienden por los huecos de más de dos barreletes. Son estas células, cuyas arborizaciones quedan confinadas a un solo barrelete, las que emiten las principales proyecciones trigémino-talámicas, que alcanzan el núcleo ventrobasal del tálamo. En

los núcleos trigeminales interpolar y caudal también se encuentran representadas las vibrisas en columnas discretas, también llamadas barreletes. Estas columnas ofrecen



características parecidas a las descritas para los barreletes del núcleo principal (Ma, 1991).

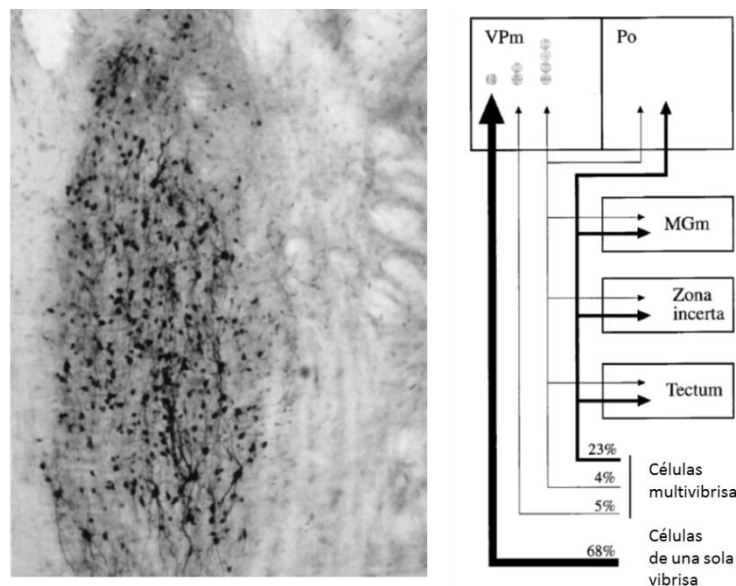
**Figura 8. Barreletes en el núcleo trigeminal principal.** Es importante notar que la representación somatotópica de las vibrisas en las estructuras centrales es una característica de todos los centros que reciben información sensorial de las vibrisas. *Modificada de Ma, 1991.*

### **3.1.1.4.3. Proyecciones trigémino-talámicas**

En el roedor, el núcleo trigeminal sensorial principal (Pr5) emite proyecciones que cruzan la línea media y constituyen el lemnisco trigeminal, que corre de manera dorsomedial al lemnisco medial. Estas proyecciones ascienden y terminan principalmente en el tálamo ventrobasal medial, pero también en la zona incerta y al grupo posterior talámico (Smith, 1975).

Veinante y Deschênes en 1999 describieron en la parte ventral del núcleo Pr5 dos tipos de células. Las del tipo 1 envían proyecciones solo al núcleo talámico ventral posteromedial contralateral, y sus terminaciones abarcaban un área aproximadamente esférica, que tenía un diámetro entre 60 y 100  $\mu\text{m}$ . Ellos sugirieron que estas células inervaban a un solo barreloide. Estas células constituyen la mayor

parte de las células que ellos encontraron. Estos investigadores categorizaron una fracción menos numerosa de las células de dicho núcleo como células de tipo 2. Estas últimas proyectaban al complejo posterior del tálamo, y también al colículo superior o al núcleo pretectal mesencefálico. Proyecciones adicionales de las células del tipo dos son aquellas que alcanzan al núcleo geniculado medial, o a la zona incerta. Además, la mayor parte de las neuronas encontradas en Pr5 respondían a la estimulación de sólo una vibrisa. Estas neuronas poseían somas pequeños y árboles dendríticos no muy extensos. Estos investigadores sugirieron que este tipo de neuronas son las ya mencionadas células de tipo 1, que se corresponden con un solo barreloide. Ellos también sugirieron que las neuronas que respondían a la estimulación de dos o más vibrisas correspondían a las células de tipo 2 (Veinante y Deschênes, 1999).

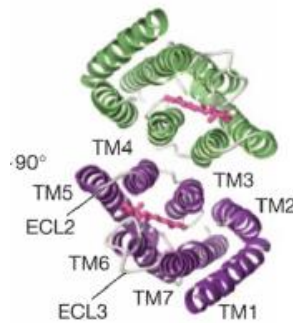


**Figura 9. Núcleos trigeminales y proyecciones trigémino-talámicas.** A la izquierda se muestra un corte coronal que pasa por el núcleo Pr5. Este fue marcado retrógradamente con biotin dextrán amina inyectado en el núcleo ventral posteromedial talámico. Nótese la arborización rostrocaudal de las células que allí yacen (células del tipo 1). A la derecha se aprecia un esquema en el que se representan las proyecciones de las células del núcleo Pr5 que responden a la estimulación de una o múltiples vibrisas. Nótese la vía principal, que corresponde a aquella que describen las células del tipo 1. Mgm es el núcleo geniculado medial, Po, el grupo posterior talámico y VPm, el núcleo ventral posteromedial. *Modificada de Veinante y Deschênes, 1999.*

### 3.1.2. Optogenética

#### 3.1.2.1. Canalrodopsina 2

La Canalrodopsina 2 (ChR2) es una opsina microbiana de 737 aminoácidos presente en la mancha ocular del alga *Chlamydomonas reinhardtii*. ChR2 contiene en su estructura un canal catión específico. La proteína es sensible a la luz, y está formada por siete segmentos transmembranales (TM) con el extremo amino del lado extracelular y el extremo carboxilo del lado intracelular. El poro de la proteína está formado por los segmentos transmembranales 1, 2, 3 y 7. La selectividad por los distintos cationes depende del segmento TM2. En TM7, la proteína se une a una molécula de retinal, que es esencial para el funcionamiento de la opsina (Kato y cols., 2012).

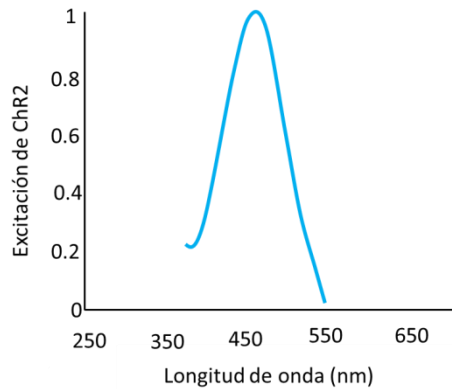


**Figura 10. Proteína quimérica C1C2 observada desde el lado extracelular.** Nótese los siete segmentos transmembranales y el retinal asociado (en rojo) con la proteína. TMx es cada uno de los siete segmentos transmembranales, donde x puede ser un número del uno al siete. ECL es un asa extracelular. *Modificada de Kato y cols., 2012.*

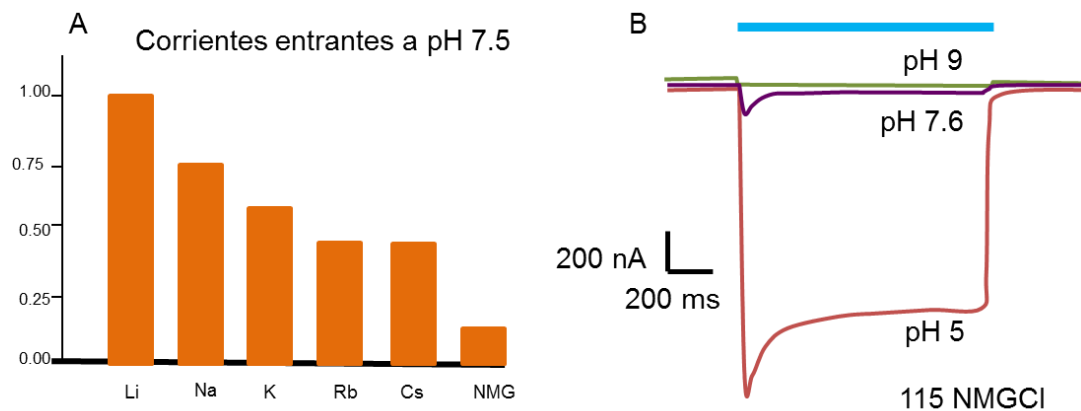
La activación óptima de esta molécula se logra por la estimulación con luz de longitud de onda de 470 nm (Figura 11) La activación de la proteína produce corrientes iónicas en ovocitos de rana y células de mamífero. La recepción de la luz y la apertura del canal son funciones desempeñadas por la misma proteína. La permeabilidad de ChR2 por un catión depende del tamaño del catión. Para cationes con radios atómicos más grandes, la permeabilidad suele ser menor (Figura 12A). En ovocitos cuyo potencial de membrana fue fijado, la magnitud de la corriente obtenida

es dependiente del pH. A pH más bajo la corriente es mayor (Figura 12B). Esto se debe a que la ChR2 es permeable al catión  $H^+$  (Nagel y cols., 2003).

Después de una estimulación sostenida, la intensidad de la corriente inicial  $I_0$  decrece y se mantiene constante  $I_\infty$  hasta que el estímulo se retira. El pico en la corriente ocurre en el momento en que la proteína pasa de un estado conductor  $O_1$  a otro estado, también conductor,  $O_2$ . La  $I_0$  está dada por el ingreso de cationes monovalentes y divalentes, entre ellos  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  y  $H^+$ . La  $I_\infty$  está dada principalmente por el ingreso de  $H^+$ , por el que es selectiva la proteína en su estado  $O_2$ . La intensidad de la corriente es menor cuando después de la aplicación de un pulso, transcurre sólo un corto periodo sin estimulación antes del segundo pulso luminoso (Berndt y cols., 2009).



**Figura 11. Espectro de excitación de ChR2.** Nótese el pico de excitación, que se encuentra alrededor de los 470 nm. *Modificada de Zhang y cols., 2006.*



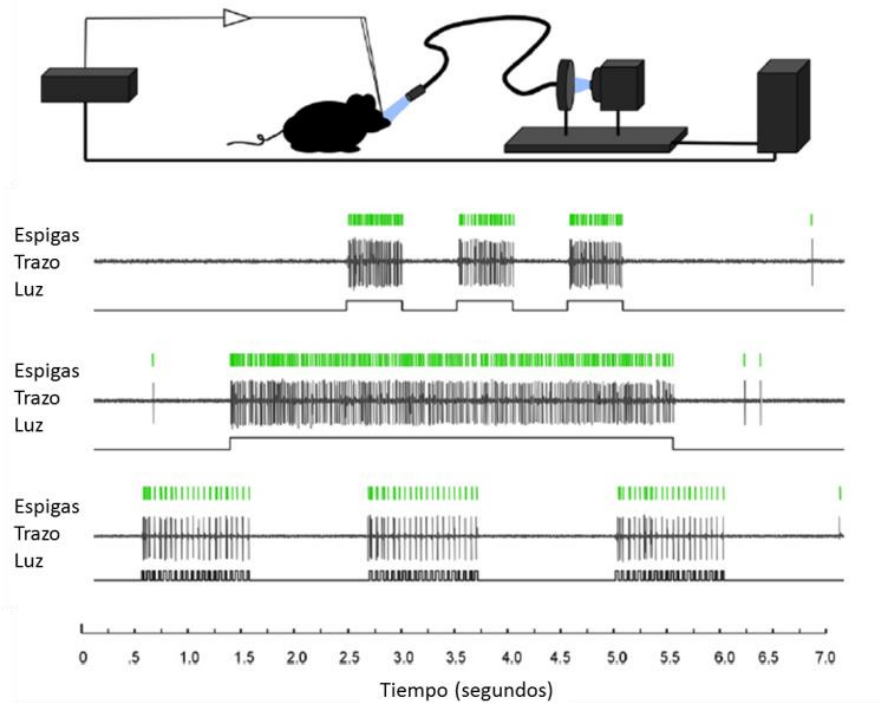
**Figura 12. Corrientes iónicas a través de ChR2.** **A.** Corrientes normalizadas provocadas por estimulación luminosa medidas en el mismo ovocito, -100 mV, pH 7.5. El medio en cada caso contenía 115mM de XCl, en donde X puede ser Li, Na, K, Rb, Cs o NMG(N-metil-D-glucamina). Nótese que la tendencia es que la magnitud de la corriente disminuye conforme el radio molecular del catión aumenta. **B.** Corrientes provocadas por la estimulación luminosa (barra azul) en un mismo oocito. El potencial de membrana se mantuvo a -100mV y el medio contuvo en todos los casos 115 mM de NMGCl. El pH del medio fue de 5, 7.6 y 9 en tres situaciones diferentes. Nótese que la corriente más intensa fue aquella en la que el medio donde se encontraba el ovocito tenía pH 5. Nótese también que la intensidad de la corriente decrece después de cierto tiempo para estabilizarse y mantenerse constante hasta que el estímulo se retira. *Modificada de Nagel, 2003.*

### **3.1.2.2. Ratones Thy1.2-ChR2-YFP**

En 2007 Arenkiel y colaboradores, Wang y colaboradores generaron diversas líneas de ratones que expresaban el transgén ChR2 bajo el control del promotor Thy1.2, fusionado con la proteína fluorescente YFP (Proteína Fluorescente Amarilla). Los transgénicos fueron generados mediante inyección pronuclear. Ellos prestaron especial interés a la línea 18, pues esta expresaba la proteína en cantidades considerables en una variedad amplia de tejidos. Un constructo de este tipo les permitió tener a la proteína activadora (ChR2) fusionada con una proteína reportera (YFP). La intensidad de la fluorescencia de YFP fue más grande en axones y dendritas.

Por otra parte, la probabilidad de que una neurona piramidal de estos ratones se excite por medio de luz es una función de la frecuencia de estimulación. La probabilidad de generar un potencial de acción es alta a frecuencias de estimulación de hasta 35 Hz. El número de potenciales de acción generados en un cierto tiempo es una función de la intensidad de la luz. La cantidad de potenciales de acción crece cuando se aumenta la intensidad de la luz; esto sucede mientras el sistema no se encuentre saturado. La figura 13 muestra la fidelidad con la que responden las células de estos ratones a la estimulación luminosa de hasta 40 Hz de frecuencia (Wang y cols., 2007; Arenkiel y cols., 2007).

Asrican y colaboradores, reportaron la presencia de la proteína ChR2 en las neuronas de las corteza visual primaria, corteza somatosensorial primaria, corteza asociativa parietal, corteza motora primaria, bulbo olfatorio, entre otras áreas, en líneas que utilizan a Thy1.2 como promotor (Asrican y cols., 2013).



**Figura 13. Respuesta de neuronas en la capa V de la corteza del ratón Thy1.2-ChR2-YFP ante la estimulación lumínica de  $\lambda=488\text{nm}$ .** Nótese la fidelidad de la respuesta ante los diferentes patrones de fotoestimulación. En la parte superior de la figura se muestra el arreglo mediante el que se obtuvo esta información. El registro extracelular ocurrió de manera simultánea a la estimulación en la corteza motora primaria. Nótese que ante la estimulación sostenida por periodos largos de tiempo generó un patrón de disparo de alta frecuencia. *Modificada de Arenkiel y cols., 2007.*

Originalmente estos ratones se utilizaron para estudiar la importancia que tiene la convergencia de las proyecciones de las células mitrales del bulbo olfatorio en la corteza olfativa (Arenkiel y cols., 2007). Y desde entonces estos ratones han servido para estudios de las más diversas índoles, entre las que se destacan la propuesta de la activación directa por luz de las células ganglionares retinianas de ratones deficientes en fotorreceptores (Natasha y cols., 2013), la estimulación de las células aferentes del ganglio espiral en modelos de sordera (Hernandez y cols., 2014), y la generación de mapas de la corteza motora (Aysling y cols., 2009), por mencionar algunos.

Los avances en las herramientas optogenéticas son vastos, y de importancia fundamental para el desarrollo de esta área (Hegemann y Möglich, 2011). Es mediante el uso de promotores específicos de tejidos que se logra la expresión

restringida de una opsina microbiana en una población celular particular (Zhao y cols., 2011; Chuhma y cols., 2011). Las modificaciones en la opsina misma, como la adición de señales de tráfico o señales de exportación del retículo endoplásmico, impiden la acumulación intracelular de la proteína, y mejoran su localización en la membrana plasmática. Esto aumenta la magnitud de las corrientes provocadas ante la estimulación, permite utilizar menores intensidades de estimulación y ocupar luz con mayores longitudes de onda (Gradinaru y cols., 2008; Gradinaru y cols., 2010). El problema que supone a la luz el atravesar grandes masas de tejido, puede ser librado mediante la implementación de dispositivos que conduzcan la luz, y de esta manera excitar por medio de la luz a estructuras subcorticales, por ejemplo, a los núcleos talámicos (Castonguay y cols., 2014). Recientemente Liske y colaboradores probaron que es posible inhibir a las motoneuronas y a las fibras musculares inervadas por éstas, sirviéndose de la proteína ChR2. Lo anterior, en una preparación con el nervio ciático de ratones Thy1.2-ChR2-YFP de la línea 18 mantenido a baja temperatura (10°C), mientras se estimula con pulsos luminosos de alta frecuencia (50Hz) a estas células. Esto amplía aún más las posibilidades de la utilización de esta proteína, esta vez, con la finalidad de inhibir y no de excitar a las células en cuestión (Liske y cols., 2013).

### **3.1.3. Resonancia Estocástica**

#### **3.1.3.1. Ruido**

El ruido es una señal puramente aleatoria. Su amplitud no se puede predecir en un tiempo determinado. De esta manera el valor que adopta esta señal en el tiempo puede ser descrito sólo por una función de densidad de probabilidad. El ruido se puede clasificar de acuerdo a su contenido de frecuencias en diferentes colores. La denominación ruido blanco se hace en analogía con la luz. Cuando las diferentes frecuencias del ruido están presentes en la misma cantidad, el ruido se clasifica como blanco. Es decir, sus espectros de potencia y frecuencia son funciones constantes de la frecuencia (Mancini, 2002).

El ruido está presente en todos los niveles del sistema nervioso central. Se considera que este ruido interfiere con la fidelidad de la transmisión de las señales biológicas. Como respuesta a esto, los sistemas han desarrollado mecanismos orientados a disminuir la magnitud de los efectos destructivos del ruido sobre las señales, o inclusive, para aprovecharle en la transmisión de dichas señales (Faisal y cols., 2008). Por ejemplo, la información transmitida por el axón de una célula aumenta cuando esta célula recibe como entradas ruido y una señal senoidal, en comparación con la situación en la que sólo recibe a la señal senoidal. Este aumento es máximo para cierta desviación estándar de la función de densidad de probabilidad que describe a dicho ruido (Chialvo y Apkarian, 1993).

### **3.1.3.2. Descripción del fenómeno de resonancia estocástica**

El término resonancia estocástica hace referencia a un fenómeno que presentan los sistemas no lineales. Este fenómeno consiste en la amplificación de una señal débil mediante la adición de ruido a dicha señal o al sistema no lineal; de esta manera, es posible que un sistema detecte esta señal débil. La respuesta del sistema en función del nivel del ruido presenta un comportamiento resonante, es decir, la curva que representa dicha función presenta pendiente positiva, se vuelve cero (alcanza un máximo) y luego es negativa. Esta curva es convexa y presenta una forma de U invertida. Los sistemas susceptibles a presentar este efecto pueden tener dos estados estables o uno solo. El último caso hace referencia a los sistemas excitables. Estos sistemas pasan de un estado estable a un estado excitado, luego, después de un tiempo, el sistema vuelve a su estado estable (Gammaitoni y cols., 1998).

Benzi y colaboradores en 1981 fueron los primeros en proponer el concepto de resonancia estocástica (Benzi y cols., 1981). Ellos expusieron un modelo basado en la ocurrencia de un evento oscilatorio y de eventos que acontecen de manera aleatoria (ruido) para explicar la periodicidad con que ocurrían cambios radicales de temperatura en el planeta. De esta manera podían explicar la aparición de una era glacial en la Tierra cada cien mil años. Benzi defiende que el término resonancia es apropiado, pues explica que los cambios periódicos de temperatura no ocurren ante niveles bajos o altos de ruido, pero sí ante un nivel adecuado (Benzi y cols., 1982).

Wiesenfield y Jaramillo en 1998 y Hänggi en 2002 presentaron un ejemplo que ilustra de manera sencilla el fenómeno de resonancia estocástica. Un sistema consiste en un recipiente de dos pozos que contiene una esfera. Este sistema sufre un desplazamiento oscilatorio de atrás a adelante, que provoca el movimiento de la esfera, pero no su paso al pozo contiguo. En otra situación, el recipiente también se mueve de manera aleatoria, de arriba abajo. Si se modulara la amplitud de este movimiento aleatorio, sucedería que para pequeñas amplitudes, la esfera permanecería en el pozo donde se colocó, y para amplitudes muy grandes, la esfera tomaría caminos que difícilmente le encausarían hacia el pozo vecino. Sin embargo, en un nivel óptimo de la amplitud del movimiento aleatorio, la esfera ocasionalmente pasaría al otro pozo. Si el sistema detecta una señal cuando la esfera pasa de un pozo al otro, la probabilidad de la detección de dicha señal, aumenta ante la adición de un nivel óptimo de ruido (Wiesenfield y Jaramillo, 1998; Hänggi, 2002).

### **3.1.3.3. Caracterización de la resonancia estocástica**

Existen diversas medidas para la cuantificación del efecto de la resonancia estocástica. La relación señal-ruido de la respuesta de un sistema es una de estas medidas; esta se define como el cociente del área del pico de la frecuencia fundamental del espectro de potencia de la señal de salida del sistema y la amplitud media del ruido de fondo (Cordo y cols., 1996B; Fauve y Heslot, 1983, Manjarrez y cols., 2002, 2003; Pei y cols., 1996; Douglass y cols., 1993).

Douglass y colaboradores en 1993 utilizaron otra medida para cuantificar a la resonancia estocástica. Esta fue la relación señal ruido de los histogramas de los intervalos inter-espiga (Douglass y cols., 1993).

Otra manera de cuantificar a la resonancia estocástica en un sistema biestable, se basa en los histogramas de los periodos en los que ocurre una transición entre los dos estados estables. Se hallan picos en los tiempos correspondientes a los múltiplos de la mitad del periodo de la fuerza periódica externa que actúa sobre el sistema. El área del primero de los picos en función del nivel de ruido presenta un

comportamiento resonante. Dicha área es una medida para cuantificar el efecto de resonancia estocástica (Gammaitoni y cols., 1998).

#### **3.1.3.4. Resonancia estocástica en sistemas físicos**

Poco después del desarrollo de la teoría de resonancia estocástica, se hicieron presentes las demostraciones experimentales en sistemas físicos, que darían soporte a dicha teoría. Fauve y Heslot en el año 1983 utilizaron un dispositivo basado en un amplificador operacional para verificar el fenómeno. Este dispositivo emitía una respuesta, que consistía en la transición entre dos estados posibles, cuando el voltaje de entrada del amplificador superaba cierto voltaje umbral. La magnitud del umbral cambiaba de manera periódica con el tiempo. Cuando además del voltaje de entrada se adicionaba ruido blanco gaussiano, estos investigadores observaron un pequeño pico en la frecuencia con la que variaba el umbral, confundido con otros componentes en el espectro de potencia de la respuesta del dispositivo. Ellos observaron que al adicionar al sistema ruido que provenía de una distribución con una desviación estándar mayor, el pico en la frecuencia con la que variaba el umbral era mucho mayor y que los componentes de fondo habían casi desaparecido (Fauve y Heslot, 1983). De manera similar, en 1988, McNamara y colaboradores reportaron la observación del fenómeno de resonancia estocástica en un dispositivo óptico biestable. Este dispositivo consistía en un anillo conformado por espejos, por el que viajaba un haz de luz, en un asa cerrada. Dicho haz podía seguir una trayectoria en dirección de las manecillas del reloj, o en dirección opuesta. El cambio de una dirección a la otra era detectado, y en respuesta, el sistema provocaba la iluminación de un fotodiodo. En la cavidad del anillo, estaba presente un modulador acústico-óptico, el que, al aplicársele ondas acústicas, podía hacer cambiar la dirección en que viajaba el haz de luz por el anillo. La señal a transmitirse al modulador acústico-óptico, estaba constituida por un componente senoidal, con frecuencia constante y ruido. A diferentes niveles de ruido de entrada, partiendo de un nivel bajo, observaron que el incremento de la relación señal ruido en la respuesta de salida alcanzaba un máximo y después caía conforme se consideraban niveles de ruido cada vez más altos (McNamara y cols., 1988).

### **3.1.3.5. Resonancia estocástica en los sistemas sensoriales**

Douglass y colaboradores en el año 1993 sugirieron que los sistemas sensoriales han desarrollado la capacidad de aprovechar el ruido, siempre presente, para detectar señales débiles. Motivados por esta sospecha, estos investigadores demostraron por primera vez, la presencia de la resonancia estocástica en un sistema sensorial de un organismo viviente. Para ello, realizaron experimentos en los mecanorreceptores de la cola del langostino de río (Douglass y cols., 1993). El fenómeno ha sido, desde entonces, verificado en múltiples sistemas sensoriales de los organismos vertebrados e invertebrados. Los seres vivos podrían valerse de la resonancia estocástica para asegurar su supervivencia, mediante la optimización de la obtención de alimento (Russell y cols., 1999), o la detección de posibles depredadores (Levin y Miller, 1996; Pei y cols., 1996).

Además, el fenómeno de resonancia estocástica se manifiesta en la respuesta de las neuronas corticales en el sistema nervioso central del ser humano. Prueba de lo anterior es el cambio de la relación señal-ruido de la actividad eléctrica registrada en la corteza somatosensorial cuando se aplica además de un estímulo mecánico con frecuencia constante, un estímulo ruidoso en la piel del dedo (Collins y cols., 1997; Manjarrez y cols., 2002). Lo anterior se encuentra íntimamente relacionado con los reportes de que la probabilidad de que un estímulo táctil que normalmente no es detectado por un sujeto, sea detectado, aumenta cuando el estímulo es aplicado conjuntamente con ruido mecánico de un nivel óptimo (Cordo y cols., 1996A; Collins y cols., 1997). De manera semejante, el ser humano percibe más claramente rasgos finos en una imagen digitalizada subumbral cuando a dicha imagen se le adiciona un nivel particular de ruido proveniente de una distribución normal (Simonotto y cols., 1997).

Por otra parte, Mori y Kai en el año 2002 demostraron que la resonancia estocástica se presentaba a nivel del sistema nervioso central y no sólo a nivel periférico. Para ello, realizaron experimentos en sujetos sanos a los que se administraron estímulos visuales periódicos y subumbrales al ojo derecho. Simultáneamente, el ojo izquierdo recibía estímulos visuales ruidosos. En medio de los ojos de los sujetos se colocó

una barrera que impedía que las señales periódicas y ruidosas se mezclaran antes de impactar la retina. De esta manera, el efecto que ellos observaron se atribuyó a las características de la corteza cerebral como sistema que procesa información. Ellos observaron un aumento en la sincronización de las ondas cerebrales registradas en la posición O1 cuando se aplicaba cierto nivel de ruido visual (Mori y Kai, 2002). De manera consistente con estas observaciones, Manjarrez y colaboradores en el año 2003 observaron un comportamiento resonante de la relación señal-ruido de los potenciales del asta dorsal de la médula espinal y de la corteza somatosensorial primaria del gato, en función del ruido de entrada. Lo anterior cuando se estimulan mecánicamente a la par, el cojinete central y el tercer dígito del miembro pélvico, el primero de manera periódica y el segundo de manera ruidosa. Esto sugiere que el ruido juega un papel importante en las funciones sensoriales del sistema nervioso central, donde converge la información del exterior.

Interesantemente, el ruido también puede mejorar el desempeño en una tarea sensorimotora realizada por un ser humano. Esto fue reportado por Mendez-Balbuena y colaboradores en 2012. En ese estudio, la tarea consistía en mantener el dedo índice en una posición fija. Para lograr esto, el sujeto debía generar una fuerza que se opusiera a una fuerza externa que tendía a alejar el dedo de la posición deseada. El desempeño mejoraba cuando a la fuerza externa se le añadía un nivel óptimo de ruido (Mendez-Balbuena y cols., 2012). En un caso parecido, la estabilidad postural de personas que se encuentran de pie mejora de manera notable ante el suministro de ruido táctil o eléctrico subsensorial en la planta del pie o la rodilla. El fenómeno de resonancia estocástica se manifiesta en la reducción del balanceo postural como consecuencia de la administración de ruido con respecto a la condición sin ruido. Lo anterior sería consecuencia de un aumento de la sensibilidad de los mecanorreceptores de la planta del pie, o de los receptores propioceptivos ubicados en la articulación de la rodilla (Priplata y cols., 2002; Gravelle y cols., 2002). Tiempo atrás de la realización de estos estudios, Cordo y colaboradores en 1996 demostraron la ocurrencia de la resonancia estocástica en el sistema propioceptivo del ser humano (Cordo y cols., 1996B).

El fenómeno de resonancia estocástica no se limita a casos en los que las señales de entrada al sistema son periódicas, sino que también ocurre en sistemas que reciben señales aperiódicas. Tal es el caso de los mecanorreceptores periféricos de roedores (Collins y cols., 1996).

### **3.2. Antecedentes Específicos**

#### **3.2.1. Resonancia estocástica de modalidades cruzadas**

En los casos anteriormente expuestos, el estímulo y el ruido eran de la misma modalidad. Sin embargo, esta no es una condición necesaria para que se presente la resonancia estocástica. Prueba de ello son los estudios en que se presentan un estímulo mecánico y ruido eléctrico a un ser humano, con el objetivo de disminuir el umbral de detección de dicho estímulo mecánico (Richardson, 1998; Dhruv y cols., 2002). Análogamente, en el ser humano, el ruido acústico puede disminuir el umbral de detección de un destello luminoso (Manjarrez y cols., 2007). La disminución del umbral de detección de un estímulo, estaría en íntima relación con la observación del crecimiento en amplitud del componente P100 del potencial provocado visual ante la administración de ruido de un nivel óptimo (Méndez-Balbuena y cols., 2015).

De manera general, en el ser humano, el ruido acústico disminuye el umbral de detección de estímulos provenientes de diversas modalidades. La naturaleza de estos estímulos puede ser táctil, visual o propioceptiva. Lo anterior da pie a suponer que existe un mecanismo general de facilitación de la percepción una señal de una modalidad, debida a la interacción de esta señal con ruido de una modalidad diferente. Se atribuye esta acción a ciertas zonas del sistema nervioso capaces de integrar información de naturalezas sensoriales diferentes; por ejemplo, la corteza cerebral parietal o los colículos superiores (Lugo y cols., 2008; véase también Huidobro, 2013).

Inclusive antes de la enunciación de la teoría de la resonancia estocástica, Harper en 1979 demostró que el ruido acústico puede aumentar la agudeza temporal visual. En ese estudio, sujetos humanos debían indicar si un estímulo luminoso era percibido como continuo o intermitente. La probabilidad de distinguir entre los dos tipos de

estímulo era mayor cuando se aplicaba cierta intensidad de ruido auditivo (Harper, 1979).

Otros organismos, como el langostino de río, cuentan con células que reciben información de mecanorreceptores ubicados en la cola, y además responden de manera directa ante la estimulación con luz. La incidencia de luz provoca el disparo aleatorio de estas células debido al aumento del ruido interno. Cuando se estimulan estas células directamente con luz continua y, a la vez, se estimulan de manera periódica los mecanorreceptores periféricos, se hace manifiesta la resonancia estocástica (Pei y cols., 1996).

#### **4. Planteamiento del problema**

Se ha acumulado una gran cantidad de evidencia que brinda soporte al fenómeno de resonancia estocástica. Esta evidencia está conformada por los reportes de la observación del fenómeno en sistemas físicos y biológicos (Fauve y Heslot, 1983; McNamara y cols., 1988; Douglass y cols., 1993; Levin y Miller, 1996; Pei y cols., 1996).

Por otro lado, los métodos de estimulación por medio de luz a las neuronas de la corteza cerebral permite la activación de áreas discretas de dicha corteza cerebral con alta precisión temporal y espacial (Arenkiel y cols., 2007; Wang y cols., 2007; Hegemann y Möglich, 2011). Sin embargo, no se ha explorado la posibilidad de que la respuesta a un estímulo mecánico, por parte de una zona de la corteza cerebral, se facilite por medio de la estimulación optogenética ruidosa por el mecanismo de resonancia estocástica. En los roedores, un área extensa de la corteza somatosensorial primaria está ocupada por zonas que reciben información de las vibrisas faciales (Woolsey y Van der Loos, 1970; Welker, 1971). Por este motivo, se ha elegido la corteza de los barriles del ratón para la exploración de dicha posibilidad. De esta manera, se plantea la siguiente pregunta ¿Es posible que se module la amplitud del potencial provocado por la estimulación de las vibrisas del ratón registrado en la corteza de los barriles, cuando se estimule por medio de luz ruidosa directamente dicha zona de la corteza cerebral por un mecanismo de resonancia estocástica?

## **5. Hipótesis**

### **5.1. Hipótesis científica**

Un nivel óptimo de ruido luminoso aplicado sobre la corteza de los barriles del ratón Thy-ChR2-YFP facilitará la amplitud del potencial provocado por la estimulación de las vibrisas labiales del ratón, como consecuencia del fenómeno de resonancia estocástica.

### **5.2. Hipótesis estadística**

La media de los datos obtenidos, en los ratones transgénicos, en la condición de Ruido Óptimo ( $\mu_{RO}$ ), es mayor a las medias de los datos obtenidos en las condiciones de Ruido Alto ( $\mu_{RA}$ ) y de Ruido Cero ( $\mu_{RC}$ ).

Es decir, para los ratones transgénicos, se plantea que  $\mu_{RO} > \mu_{RA}$  y  $\mu_{RO} > \mu_{RC}$ .

La media de los datos obtenidos, en los ratones silvestres, en la condición de Ruido Óptimo, es igual a las medias de los datos obtenidos en las condiciones de Ruido Alto y de Ruido Cero.

Es decir, para los ratones silvestres, se plantea que  $\mu_{RO} = \mu_{RA}$  y  $\mu_{RO} = \mu_{RC}$ .

## **6. Objetivos**

### **6.1. Objetivo General**

Demostrar la ocurrencia del fenómeno de resonancia estocástica en la corteza de los barriles del ratón, utilizando dos formas de estimulación ruidosa optogenética y estimulación periódica mecánica.

### **6.2. Objetivos Particulares**

1. Registrar potenciales provocados de la corteza somatosensorial al adicionar estímulos periódicos mecánico-táctiles. Ejecutar los protocolos, de estimulación y registro simultáneamente para la obtención de los datos que se someterán al análisis. Esto se realizará en ambos grupos de ratones, silvestres (C57BL/6) y transgénicos (Thy-ChR2-YFP).

2. Evaluar el efecto de la fotoestimulación ruidosa optogenética en las amplitudes de los potenciales provocados somatosensoriales. Realizar la medición de dichas amplitudes de los potenciales provocados, resultantes de la ejecución de los protocolos de estimulación, y someter los datos así obtenidos al análisis estadístico pertinente.

3. Explorar el posible efecto del ruido luminoso sobre la latencia de los potenciales provocados somatosensoriales. Realizar las mediciones de dichas latencias, y aplicar las pruebas estadísticas correspondientes para revelar si existen cambios debidos a la aplicación de ruido.

## **7. Métodos**

### **7.1. Selección de la muestra**

Ratones adultos de sexo indistinto de 30 a 40 gramos de peso. Un grupo de ratones estuvo conformado por individuos de la cepa C57BL/6. Otro grupo de ratones estuvo conformado por ratones Thy1-ChR2-YFP.

Las muestras de ambos grupos de ratones fueron seleccionadas de manera no probabilística, y en función de los criterios de selección de las unidades experimentales. Ambas muestras fueron proporcionadas por el bioterio del Centro de Investigaciones Avanzadas del Instituto Politécnico Nacional.

### **7.2. Aclaraciones bioéticas**

Los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para el cuidado y uso de animales de laboratorio: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999), así como a los códigos bioéticos vigentes para la experimentación con animales: las guías para el cuidado y uso de animales de laboratorio de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de Norteamérica (Guide For the Care and Use of Laboratory Animals, 1985).

### **7.3. Técnicas y procedimientos**

Los animales fueron anestesiados con una mezcla de Ketamina y Xilacina, en una dosis de 90 mg/kg y 5 mg/kg, respectivamente. Esta mezcla fue administrada por medio de una inyección intraperitoneal. El nivel de anestesia fue mantenido por medio de inyecciones suplementarias durante la cirugía y durante la ejecución del protocolo de estimulación y registro.

La temperatura de los animales se mantuvo a 37°C por medio de una lámpara de calor radiante durante todo el experimento.

Los animales, una vez anestesiados, fueron montados en un aparato estereotáxico. La bóveda craneal fue retirada con el fin de exponer el hemisferio cerebral derecho.

Se aplicó lidocaína sobre la piel de la cabeza del animal antes de realizar la incisión que tenía por objeto exponer el cráneo. El nivel de anestesia se monitoreó durante toda la cirugía, verificando la ausencia del reflejo de retirada, y observando continuamente el color de las mucosas.

Se estimularon mecánicamente las vibrisas del labio superior izquierdo del animal anestesiado, con la cabeza del animal fija en el aparato estereotáxico. El estímulo mecánico consistió en un pulso cuadrado de protracción de las vibrisas, de 5 ms de duración. Los pulsos se aplicaron durante 32 segundos con una frecuencia de 1Hz. La aplicación de dichos pulsos se realizó por medio del transductor y estimulador mecánico Chubbuck. Se ajustó la fuerza de la protracción, con el fin de que la amplitud del potencial provocado de campo fuera, aproximadamente, del 30% de la amplitud máxima registrada.

Concomitantemente a la estimulación mecánica, la corteza del hemisferio cerebral derecho del animal fue estimulada con luz cuya intensidad variaba de manera aleatoria en el tiempo, es decir, fue ruidosa (Figura 14). La luz fue de color azul; con una longitud de onda fue de 470 nm. Dicha luz fue aplicada mediante un LED acoplado a un cable de fibra óptica conectado a un controlador de LED (ThorLabs-DC4104 LED). A su vez el controlador de LED estaba comandado por medio de un generador de funciones (WaveTek). Un disipador de calor fue colocado en contacto directo con el cable de fibra óptica. La aplicación de la luz se realizó de manera casi perpendicular a la corteza de los barriles del hemisferio derecho expuesto.

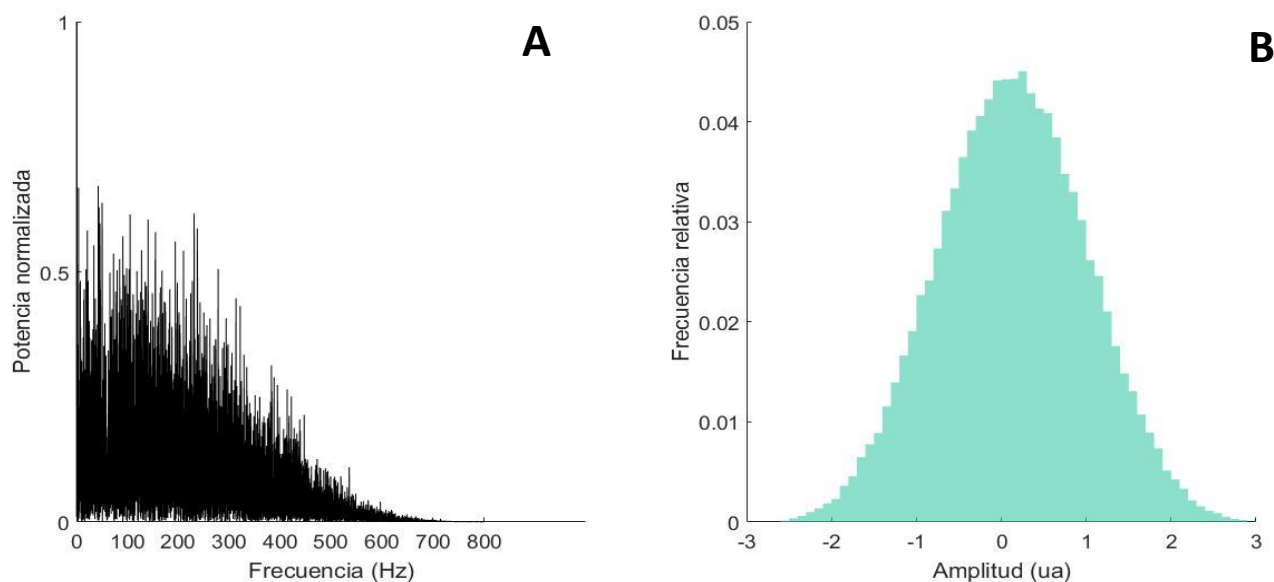
El protocolo de estimulación consistió en la aplicación de los estímulos mecánico y luminoso durante 32 segundos. La aplicación del estímulo luminoso fue continua, mientras que la aplicación del estímulo mecánico ocurría con una frecuencia de 1 Hz. Como se explicó antes, la intensidad de la luz presentó un comportamiento ruidoso. El ruido era gaussiano y blanco. Se presentaron cinco niveles de ruido, además de una condición en la que el estímulo luminoso estaba ausente. El orden de la presentación de las distintas condiciones ocurrió de manera pseudo-aleatoria para evitar posibles efectos seriales. Además, entre la presentación de una condición y

otra se dejaban pasar veinte segundos. La figura 15 ilustra el arreglo experimental descrito en esta sección.

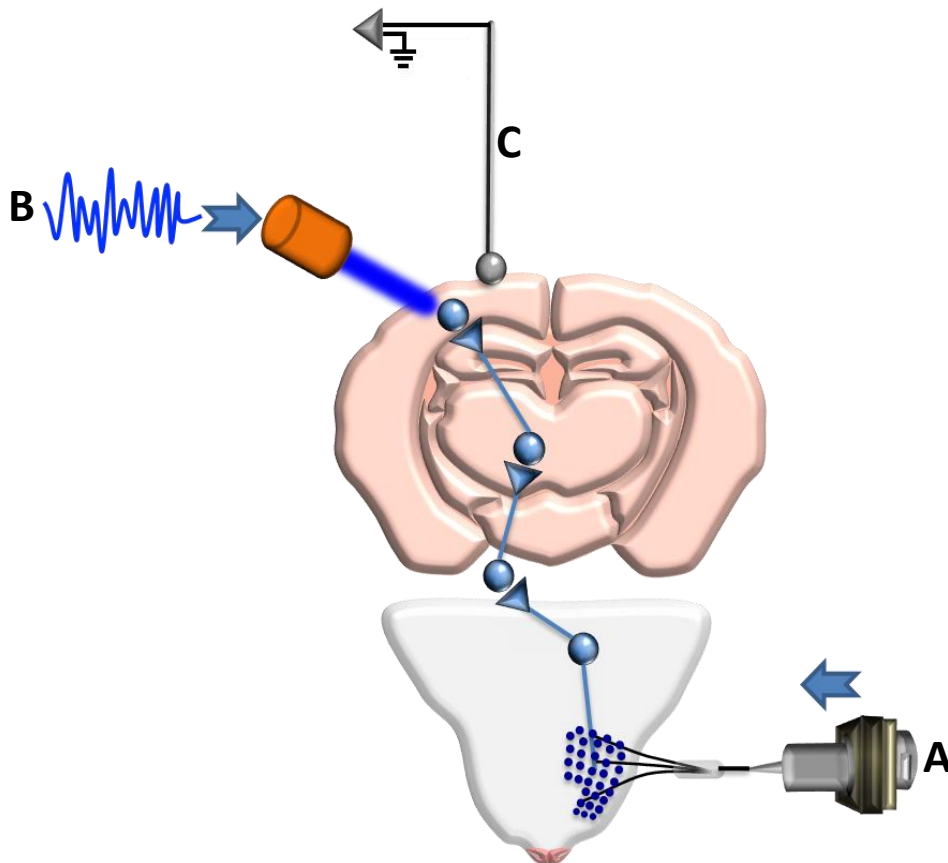
Se registraron los potenciales de campo provocados por la estimulación mecánica. El registro de potenciales de campo provocados fue realizado por medio de un electrodo de plata-plata clorurada (Ag/AgCl) de forma esférica, con un diámetro de 200  $\mu\text{m}$ . Este electrodo fue colocado en la superficie de la corteza de los barriles del hemisferio cerebral derecho, localizada entre los siguientes puntos: 0.8 mm rostral al bregma y 2.5 mm caudal al bregma; y a 3.25 mm de la línea media (Paxinos & Franklin, 2001). El registro se llevó a cabo en la zona en la que los potenciales de campo provocados presentaron una mayor amplitud.

Las señales obtenidas se filtraron (0.05 Hz -30 kHz) y se amplificaron por medio de amplificadores Astromed-Grass. Las señales filtradas y amplificadas fueron digitalizadas con una frecuencia de muestreo de 50kHz, por medio del sistema conversor análogo-digital Digidata System de Molecular Devices. Las señales de esta manera obtenidas, almacenadas y analizadas.

Al final de la ejecución de los protocolos de registro y estimulación, se sacrificaron a los animales por medio de una sobredosis de pentobarbital sódico.



**Figura 14. Ruido blanco de entrada.** **A.** Espectro de potencia normalizada de 7 segundos de la señal ruidosa digitalizada directamente de la salida del generador de funciones que comandaba al controlador de LED. Puede observarse que el ruido estaba limitado en la banda de frecuencias 0-600 Hz..**B.** Histograma de frecuencia relativa de la amplitud de 7 segundos de la señal ruidosa digitalizada directamente de la salida del generador de funciones. Se puede observar que las amplitudes, se distribuyen de manera normal.



**Figura 15. Esquema del arreglo experimental.** Las neuronas de la corteza de los barriles del hemisferio cerebral derecho fueron activadas mediante la estimulación de las vibrisas del labio superior izquierdo del ratón (A). Paralelamente, las células de la corteza también fueron activadas por medio de la estimulación con luz azul aplicada directamente sobre la superficie cortical (B). Se llevó a cabo el registro de los potenciales provocados somatosensoriales, utilizando un electrodo de Ag/AgCl colocado sobre la corteza de los barriles del hemisferio derecho del animal (C).

## 7.4. Análisis de los datos

### 7.4.1. Medición de los potenciales registrados

Se midieron las amplitudes promedio al pico de los potenciales provocados somatosensoriales para cada condición de ruido en todos los ratones, utilizando el software Axoscope de Molecular Devices. La amplitud al pico del potencial

provocado se midió desde la línea basal hasta el punto más negativo de dicho potencial; y se consideró el valor absoluto de la amplitud medida. Para el análisis estadístico se consideraron las amplitudes del potencial de campo en tres condiciones, aquella en la que no hubo estimulación ruidosa (Ruido Cero), aquella en la que la amplitud fue máxima (Ruido Óptimo) y aquella en la que el nivel de ruido fue el máximo (Ruido Alto).

Además, fueron medidas las latencias al pico de los potenciales provocados somatosensoriales. La latencia fue definida como el tiempo transcurrido entre el inicio del estímulo aplicado en las vibrisas del animal y el momento en el que el potencial provocado alcanzó su valor más negativo.

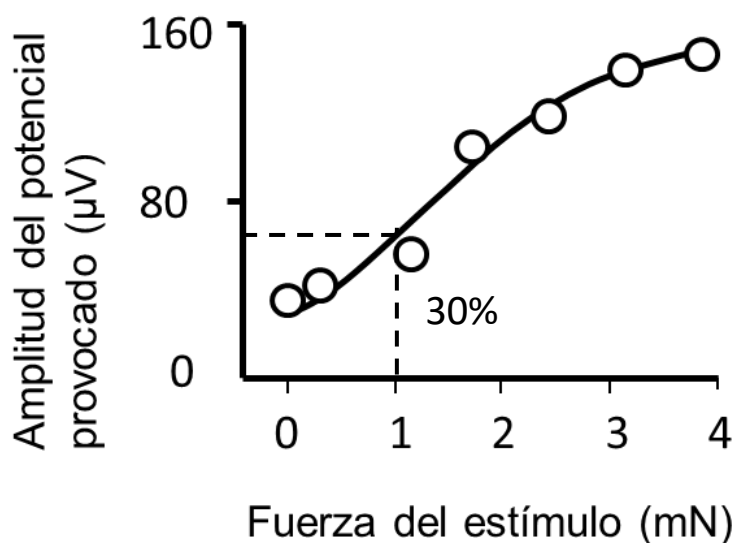
#### **7.4.2. Pruebas estadísticas**

Se llevó a cabo una prueba de Friedman no paramétrica (ver sección 11.1), no asumiendo ninguna distribución particular de los datos obtenidos al medir las amplitudes de los potenciales. Esta prueba se aplicó por separado a ambos grupos, transgénicos y silvestres. En los casos en los que se obtuvieron diferencias significativas en la prueba de Friedman, se continuó el análisis y se realizó una prueba de Wilcoxon (ver sección 11.2). De esta manera se analizaba si existían diferencias entre cada par de condiciones, Ruido Óptimo y Ruido Alto, Ruido Óptimo y Ruido Cero, y Ruido Alto y Ruido Cero. Estas pruebas se aplicaron a los datos obtenidos de los dos grupos de manera separada.

Para revelar si ocurrieron cambios en las latencias al pico de los potenciales provocados somatosensoriales, los datos obtenidos de las mediciones de dichas latencias, se sometieron a un análisis de varianza de dos vías, tomando como variables independientes a la cepa del animal y al nivel de ruido considerado.

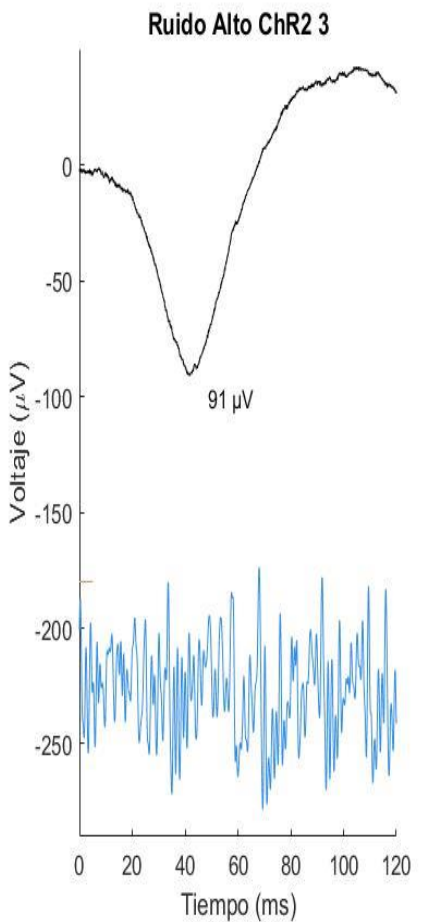
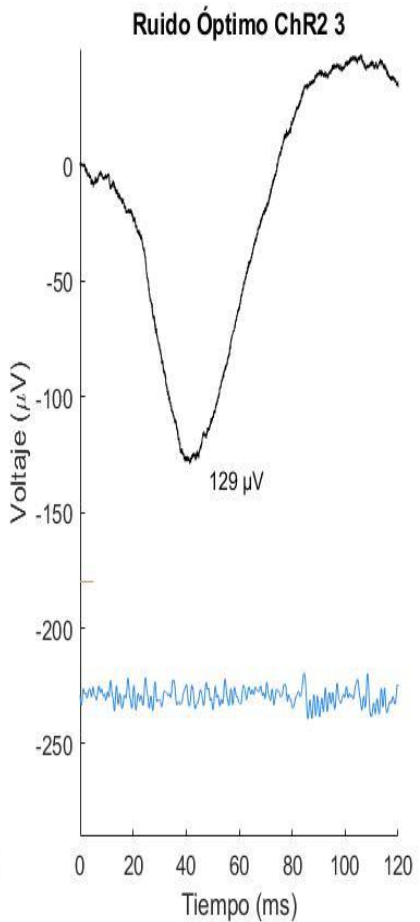
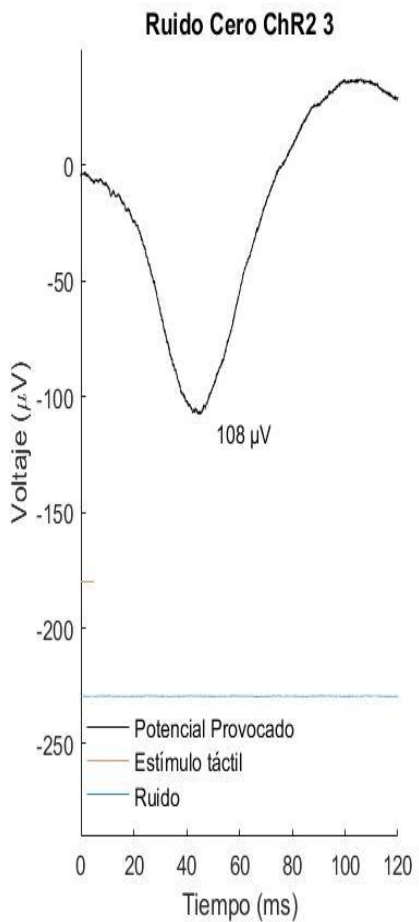
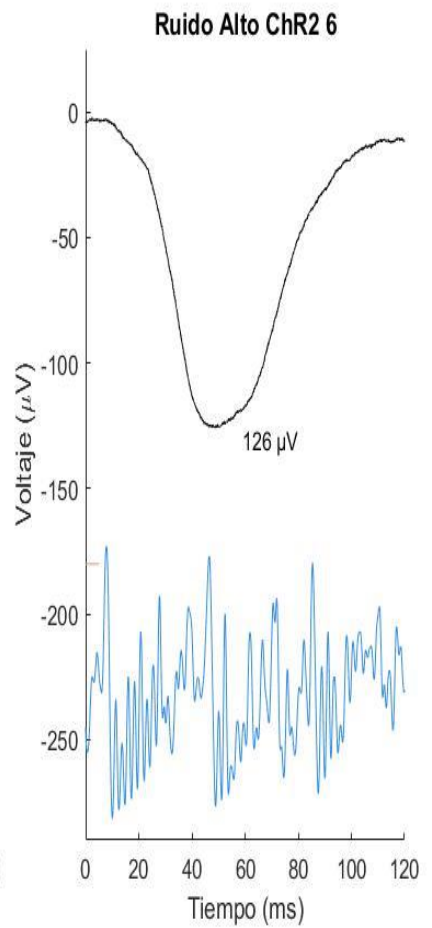
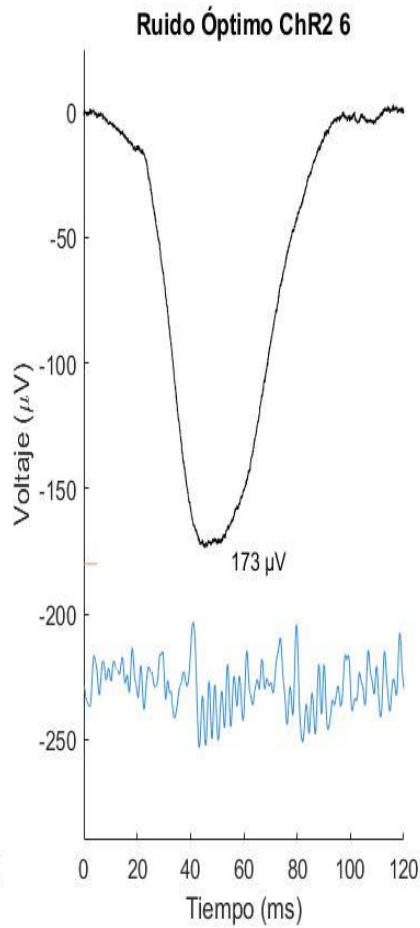
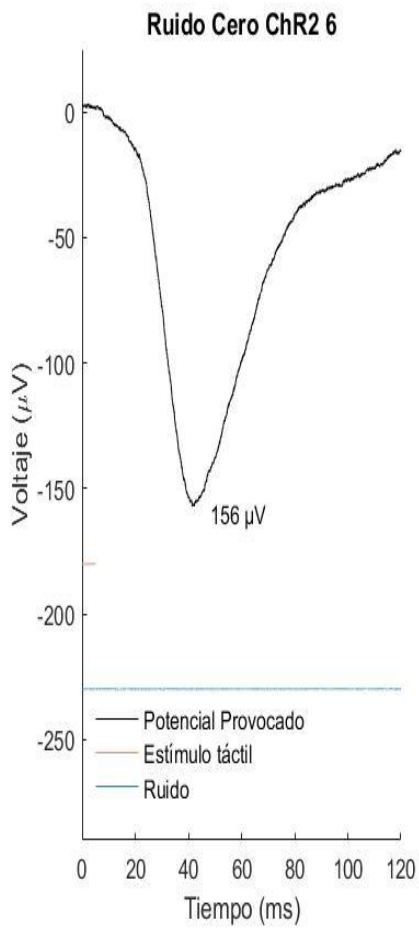
## 8. Resultados

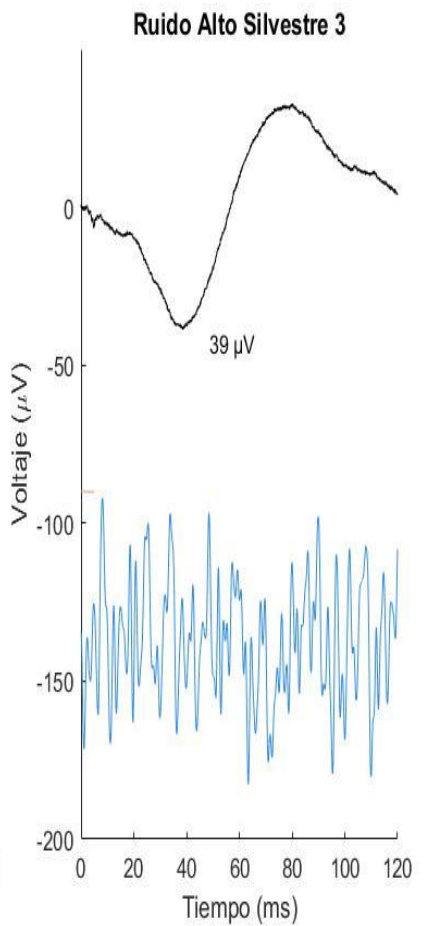
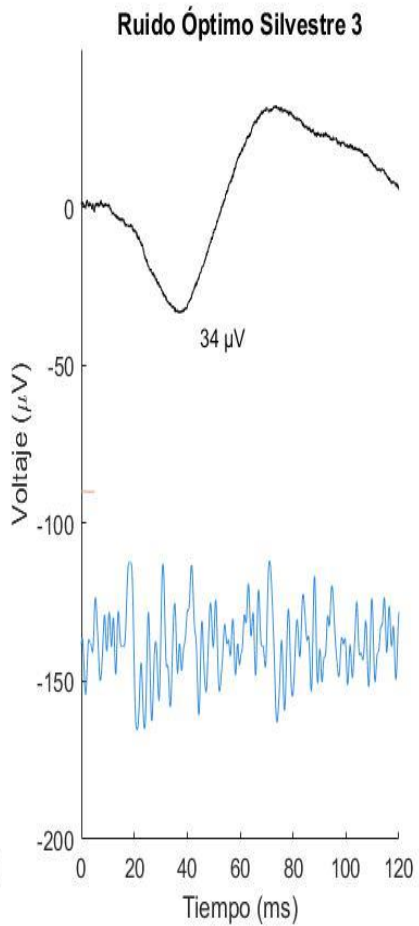
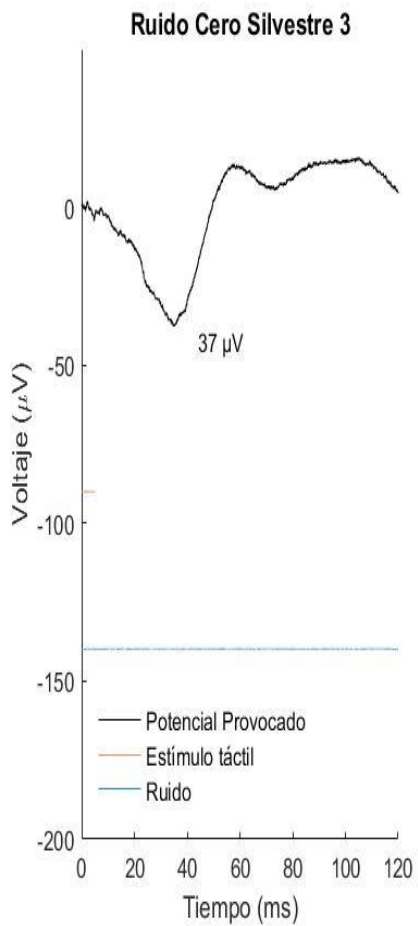
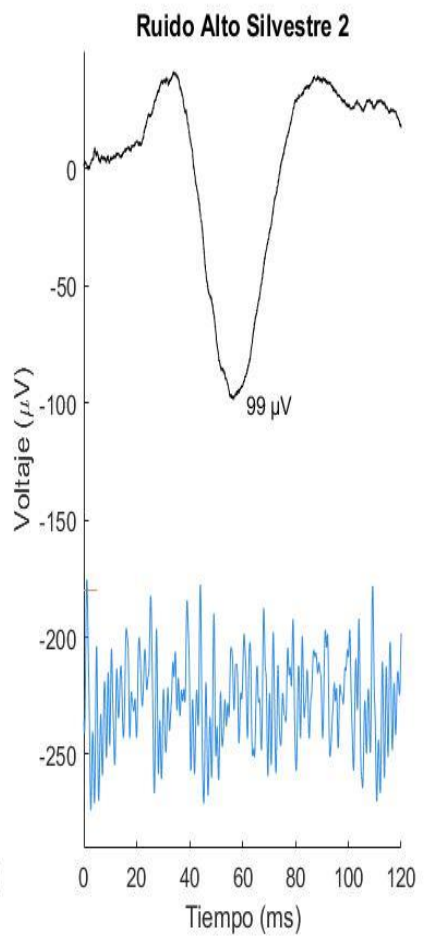
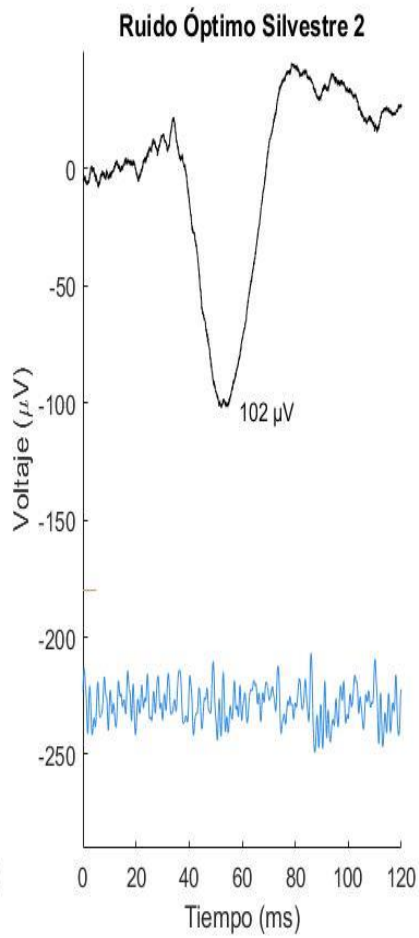
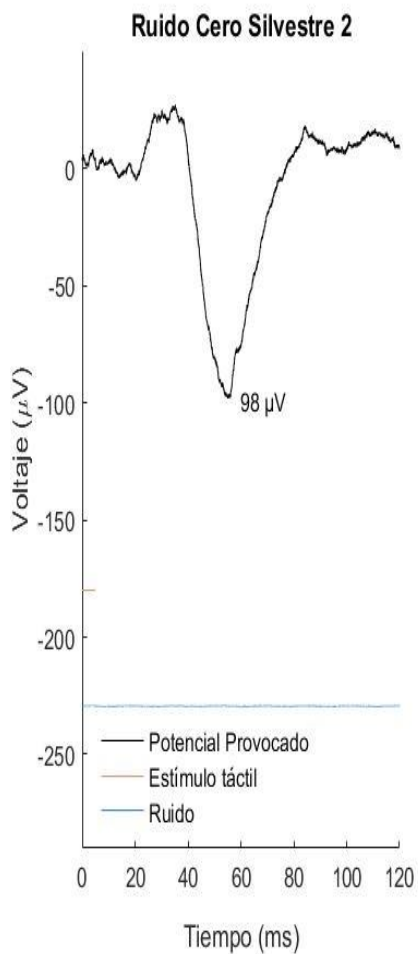
Se construyeron curvas entrada-salida a partir de las amplitudes de los potenciales de campo registrados en función de la fuerza del estímulo aplicado a las vibrisas contralaterales a dicho registro. Se eligió, para cada experimento, antes del protocolo de estimulación, el nivel de estimulación que provocara un potencial provocado cuya amplitud representara el 30% de la amplitud máxima lograda (Figura 16).



**Figura 16. Curva entrada-salida.** Gráfico de la amplitud del potencial provocado en función de la fuerza del estímulo mecánico aplicado en las vibrisas del ratón. Antes de iniciar el protocolo de estimulación, se seleccionaba el nivel de fuerza capaz de provocar el 30% de la respuesta máxima lograda.

Las figuras 17 y 18 muestran trazos típicos de los promedios de los potenciales provocados de campo registrados en la superficie de la corteza de los barriles después de 32 ejecuciones del protocolo de estimulación ya descrito. La figura 17 corresponde a los registros de los potenciales provocados somatosensoriales, realizados en la corteza de los barriles de dos ratones transgénicos (ratones ChR2 3 y 6 ). Nótese que la amplitud de los potenciales es mayor cuando se aplica en la corteza luz ruidosa de un nivel óptimo. La figura 18 corresponde a los registros de los potenciales provocados somatosensoriales, realizados en la corteza de los barriles de dos ratones silvestres (ratones 2 y 3).





**Figura 17. Trazos de los potenciales provocados registrados en la corteza de los barriles de ratones Thy-ChR2-YFP.** Promedios de los potenciales provocados después de 32 ejecuciones del protocolo de estimulación, registrados en dos ratones Thy-ChR2-YFP (ratones 3 y 6). De izquierda a derecha, se muestran las condiciones Ruido Cero, Ruido Óptimo y Ruido Alto, a las que fue sometida la corteza somatosensorial de dichos animales, de manera simultánea al registro. La amplitud del potencial provocado somatosensorial es más amplia en la condición ruido óptimo con respecto a las otras dos condiciones. Esto fue observado en todos los ratones transgénicos.

**Figura 18. Trazos de los potenciales provocados registrados en la corteza de los barriles de ratones silvestres.** Promedios de los potenciales provocados después de 32 ejecuciones del protocolo de estimulación, registrados en dos ratones silvestres C57BL/6 (ratones 2 y 3). De izquierda a derecha, se muestran las condiciones Ruido Cero, Ruido Óptimo y Ruido Alto, a las que fue sometida la corteza somatosensorial de dichos animales, de manera simultánea al registro. La amplitud del potencial provocado somatosensorial varió de manera aleatoria entre una condición y otra. En ninguna ocasión se observó un cambio de la magnitud observada en los ratones transgénicos.

Se agruparon las mediciones de la amplitud del trazo promedio del potencial provocado, para las distintas condiciones de ruido, en todos los ratones Thy-ChR2-YFP y silvestres (Tablas 1 y 2, respectivamente).

Sujeto	Cepa	Nivel de Ruido	Amplitud ( $\mu\text{V}$ )
Ratón 1	ChR2	RC	26
Ratón 1	ChR2	RO	48
Ratón 1	ChR2	RA	39
Ratón 2	ChR2	RC	34
Ratón 2	ChR2	RO	49
Ratón 2	ChR2	RA	32
Ratón 3	ChR2	RC	108
Ratón 3	ChR2	RO	129
Ratón 3	ChR2	RA	91
Ratón 4	ChR2	RC	104
Ratón 4	ChR2	RO	216
Ratón 4	ChR2	RA	52
Ratón 5	ChR2	RC	65
Ratón 5	ChR2	RO	93
Ratón 5	ChR2	RA	81
Ratón 6	ChR2	RC	156
Ratón 6	ChR2	RO	173
Ratón 6	ChR2	RA	126

**Tabla 1. Amplitud del potencial provocado en los ratones Chr2.** Mediciones del pico del trazo promedio del potencial provocado por la estimulación de las vibrisas de los ratones transgénicos. Se organizan dichas mediciones en función del sujeto (Ratón X), y del nivel de ruido aplicado (RX).

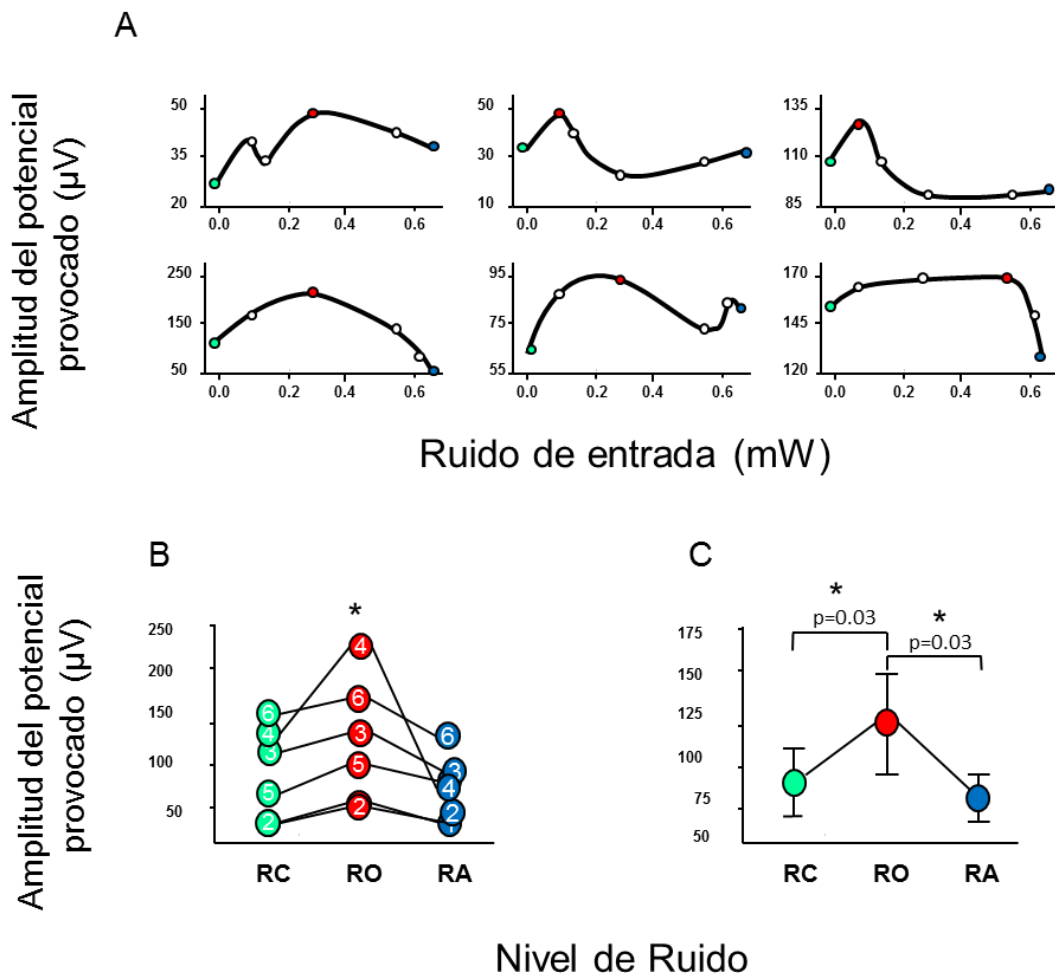
Sujeto	Cepa	Nivel de Ruido	Amplitud ( $\mu\text{V}$ )
Ratón 1	C57BL/6	RC	87
Ratón 1	C57BL/6	RO	74
Ratón 1	C57BL/6	RA	83
Ratón 2	C57BL/6	RC	98
Ratón 2	C57BL/6	RO	102
Ratón 2	C57BL/6	RA	99
Ratón 3	C57BL/6	RC	37
Ratón 3	C57BL/6	RO	34
Ratón 3	C57BL/6	RA	39
Ratón 4	C57BL/6	RC	117
Ratón 4	C57BL/6	RO	101
Ratón 4	C57BL/6	RA	115
Ratón 5	C57BL/6	RC	52
Ratón 5	C57BL/6	RO	44
Ratón 5	C57BL/6	RA	60

**Tabla 2. Amplitud del potencial provocado en los ratones C57BL/6.** Mediciones del pico del trazo promedio del potencial provocado por la estimulación de las vibrisas de los ratones silvestres. Se organizan dichas mediciones en función del sujeto (Ratón X), y del nivel de ruido aplicado (RX).

La amplitud de los potenciales provocados en función del ruido luminoso de entrada, exhibió una forma de U invertida en todos los ratones ChR2. Es decir, que la amplitud del potencial provocado aumentó al incrementar el nivel de ruido luminoso aplicado, alcanzó una amplitud máxima para cierto nivel de ruido óptimo, para luego decaer cuando se administraron niveles de ruido más altos (Figura 19A, B, C).

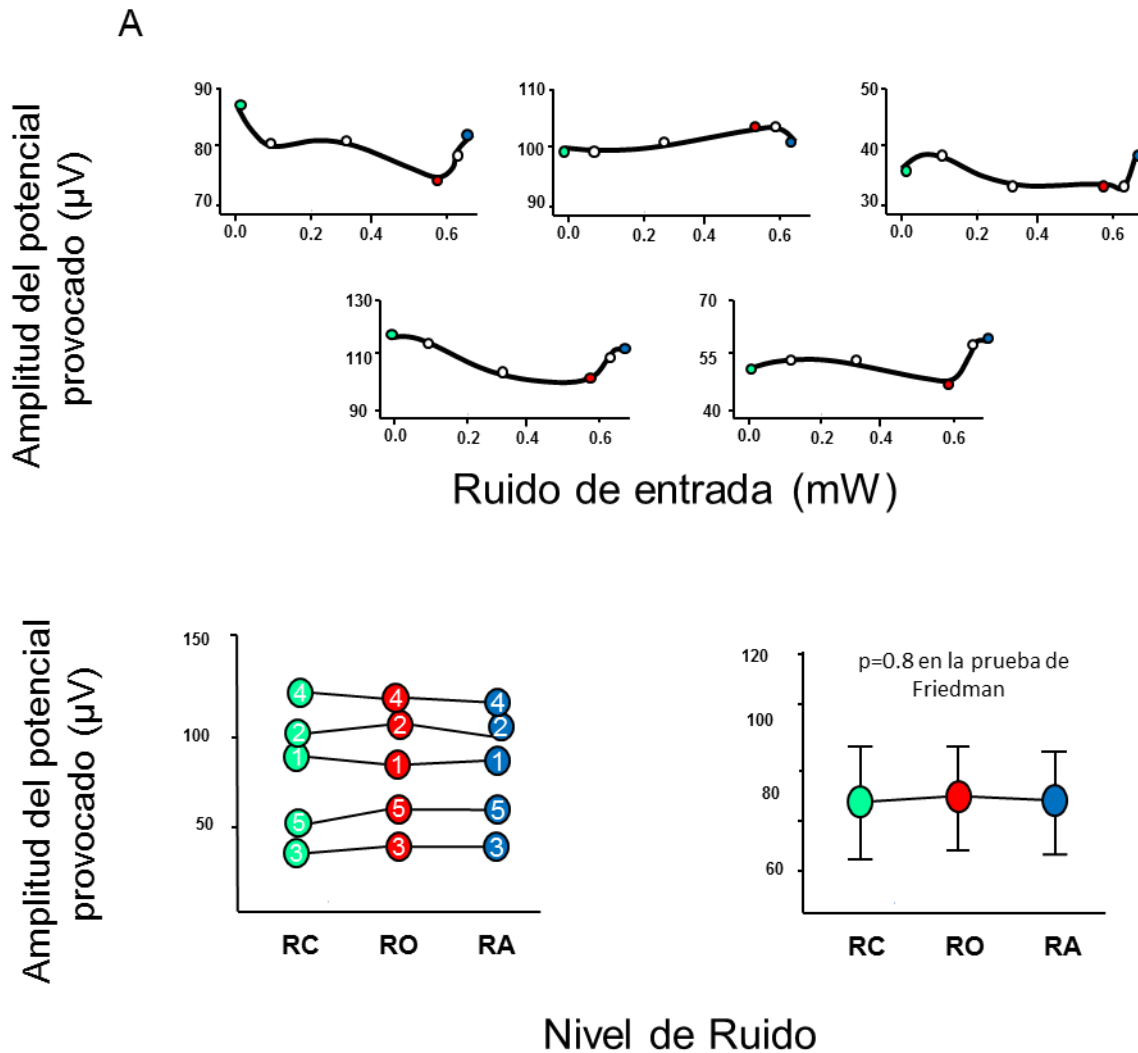
Se calcularon los promedios de las amplitudes de los potenciales para tres condiciones de ruido, Ruido Cero, Ruido Óptimo y Ruido Alto. Se aplicó la Prueba de Friedman para comparar los promedios de las tres condiciones. La prueba dio como resultado que existían diferencias significativas entre las tres condiciones ( $p < 0.05$ ). También se encontraron diferencias significativas cuando se compararon mediante la Prueba de Wilcoxon, los promedios de las amplitudes de las condiciones Ruido Cero contra Ruido Óptimo ( $p < 0.05$ ), y Ruido Óptimo contra Ruido Alto ( $p < 0.05$ ) (Figura 19C).

Por otro lado, en los ratones silvestres, no se halló en ningún caso la forma de U invertida en el gráfico de amplitud contra nivel de ruido. Las mismas pruebas estadísticas se aplicaron a los promedios de las amplitudes para las tres condiciones de ruido. No se obtuvieron diferencias significativas cuando se compararon los promedios mediante la prueba de Friedman ( $p > 0.05$ ). Por lo tanto, no fue aplicada la Prueba de Wilcoxon para comparar los diferentes pares de condiciones. La luz no tuvo efecto alguno en la amplitud de los potenciales provocados (Figura 20A, B, C).



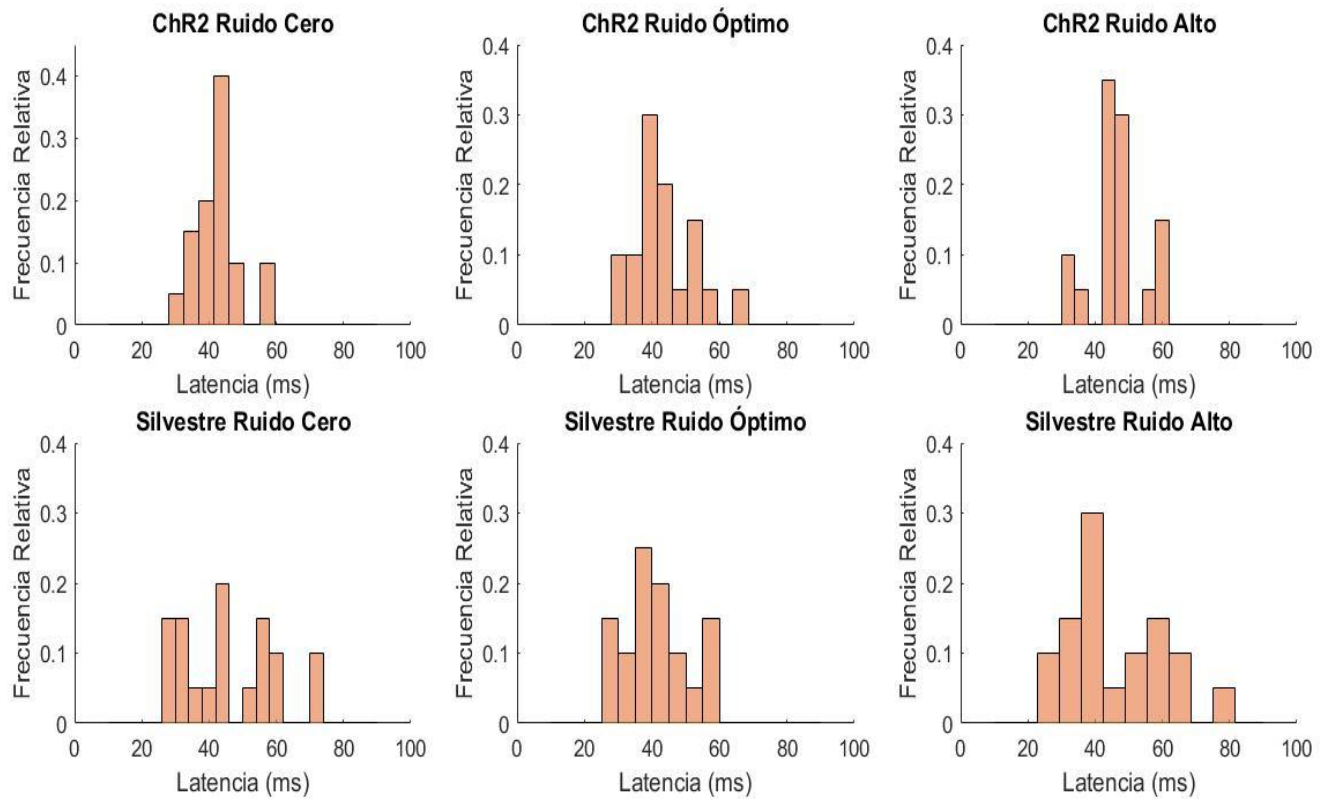
**Figura 19. Gráficos de la amplitud del potencial provocado en función del nivel de ruido luminoso aplicado de los ratones Thy-ChR2-YFP. A.** Se consideran el caso en ausencia de ruido y los casos correspondientes a los cinco niveles de ruido. Son seis gráficos que corresponden a los seis ratones Thy-ChR2-YFP. Todos los casos exhiben una forma de U invertida. **B.** Gráfico de la amplitud de los potenciales provocados en función de tres condiciones de ruido. La primera (RC) corresponde al caso en ausencia de ruido, la segunda

(RO) corresponde al caso en el que se aplicó el nivel de ruido que dio como resultado la amplitud máxima del potencial, y la tercera (RA) corresponde al caso en el que se aplicó el nivel más alto de ruido. El gráfico se hizo a partir de los datos agrupados de los seis ratones transgénicos (Tabla 1). **C.** Promedios de las amplitudes de los potenciales en función de las condiciones RO, RC y RA. En **B.** “\*\*” indica  $p < 0.05$  como resultado de la Prueba de Friedman. En **C.** “\*\*” indica  $p < 0.05$  como resultado de la Prueba de Wilcoxon que compara los promedios de las amplitudes bajo las condiciones RO y RC, y RO y RA. Las barras en **C** representan el error estándar.



**Figura 20. Gráficos de la amplitud del potencial provocado en función del nivel de ruido luminoso aplicado de los ratones silvestres. A.** Se consideran el caso en ausencia de ruido y los casos correspondientes a los cinco niveles de ruido. Son cinco gráficos que corresponden a los cinco ratones silvestres que se utilizaron. **B.** Gráfico de los potenciales provocados en función de tres condiciones de ruido (RC, RO y RA). El gráfico se hizo a partir de los datos agrupados de los cinco ratones silvestres. **C.** Promedios de las amplitudes de los potenciales en función de las condiciones RO, RC y RA. La prueba de Friedman dio como resultado  $p > 0.05$ . Las barras en **C** representan el error estándar.

Se exploraron los cambios en la latencia al pico de los potenciales provocados somatosensoriales. Para esto, se tomaron aleatoriamente cuatro de los treinta y dos registros que constituyeron la ejecución del protocolo de estimulación para cinco ratones transgénicos y cinco ratones silvestres. Se llevaron a cabo las mediciones de las latencias al pico de estos registros. Dichos datos fueron agrupados en seis condiciones Ruido Cero-ChR2, Ruido Óptimo-ChR2, Ruido Alto-ChR2, Ruido Cero-Silvestre, Ruido Óptimo-Silvestre, Ruido Alto-Silvestre. La Figura 21 muestra los histogramas de frecuencia relativa de las latencias medidas en los ratones de los seis grupos descritos. Las medias para cada grupo fueron 42.73 ms, ChR2-RC; 43.54 ms, ChR2-RO; 46.37 ms, ChR2; 46.22 ms, Silvestre-RC; 40.92 ms, Silvestre-RO; 45.77 ms, Silvestre-RA. Se llevó a cabo un análisis de varianza de dos vías, en el que se consideraron al nivel de ruido y a la cepa como variables independientes. Los resultados del análisis de varianza arrojan que no hay diferencias debidas a la cepa ( $F_{1,114}=0.002$ ,  $p=0.962$ ), tampoco debidas al nivel de ruido aplicado ( $F_{2,114}=1.323$ ,  $p=0.270$ ). Tampoco existió efecto alguno debido a la interacción de las dos variables independientes ( $F_{2,114}=0.857$ ,  $p=0.427$ ). Las mediciones de las latencias se ofrecen en las tablas 3 y 4.



**Figura 21. Histogramas de frecuencia relativa de las latencias de los potenciales somatosensoriales.** Se muestran las distribuciones de las latencias al pico de los trazos individuales de los potenciales provocados somatosensoriales. Se consideraron cuatro trazos para cada uno de cinco ratones transgénicos y cinco ratones silvestres. De esta manera, cada histograma representa la distribución de veinte mediciones. El análisis de varianza arrojó que no existen diferencias significativas debidas a la cepa, el nivel de ruido, ni tampoco a la interacción de estas variables.

Sujeto	Cepa	Nivel de ruido	Latencia (ms)	Sujeto	Cepa	Nivel de Ruido	Latencia (ms)
Ratón 1	ChR2	RC	43.77	Ratón 1	ChR2	RA	43.77
Ratón 1	ChR2	RC	42.9	Ratón 1	ChR2	RA	43.48
Ratón 1	ChR2	RC	40.29	Ratón 1	ChR2	RA	46.38
Ratón 1	ChR2	RC	44.93	Ratón 1	ChR2	RA	45.22
Ratón 2	ChR2	RC	44.93	Ratón 2	ChR2	RA	42.61
Ratón 2	ChR2	RC	42.32	Ratón 2	ChR2	RA	46.67
Ratón 2	ChR2	RC	47.54	Ratón 2	ChR2	RA	43.19
Ratón 2	ChR2	RC	43.19	Ratón 2	ChR2	RA	31.01
Ratón 3	ChR2	RC	40.87	Ratón 3	ChR2	RA	48.41
Ratón 3	ChR2	RC	44.64	Ratón 3	ChR2	RA	45.51
Ratón 3	ChR2	RC	58.48	Ratón 3	ChR2	RA	58.68
Ratón 3	ChR2	RC	48.66	Ratón 3	ChR2	RA	57.2
Ratón 4	ChR2	RC	55.49	Ratón 4	ChR2	RA	60.61
Ratón 4	ChR2	RC	37.13	Ratón 4	ChR2	RA	58.48
Ratón 4	ChR2	RC	45.67	Ratón 4	ChR2	RA	47.4
Ratón 4	ChR2	RC	32.02	Ratón 4	ChR2	RA	31.17
Ratón 5	ChR2	RC	35.87	Ratón 5	ChR2	RA	49.53
Ratón 5	ChR2	RC	34.59	Ratón 5	ChR2	RA	36.29
Ratón 5	ChR2	RC	37.15	Ratón 5	ChR2	RA	44.41
Ratón 5	ChR2	RC	34.16	Ratón 5	ChR2	RA	47.4
Ratón 1	ChR2	RO	44.35				
Ratón 1	ChR2	RO	38.55				
Ratón 1	ChR2	RO	44.35				
Ratón 1	ChR2	RO	39.71				
Ratón 2	ChR2	RO	36.52				
Ratón 2	ChR2	RO	51.88				
Ratón 2	ChR2	RO	43.19				
Ratón 2	ChR2	RO	51.3				
Ratón 3	ChR2	RO	48.7				
Ratón 3	ChR2	RO	44.35				
Ratón 3	ChR2	RO	39.26				
Ratón 3	ChR2	RO	35.85				
Ratón 4	ChR2	RO	64.03				
Ratón 4	ChR2	RO	58.96				
Ratón 4	ChR2	RO	54.64				
Ratón 4	ChR2	RO	31.17				
Ratón 5	ChR2	RO	39.28				
Ratón 5	ChR2	RO	37.57				
Ratón 5	ChR2	RO	37.15				
Ratón 5	ChR2	RO	29.89				

**Tabla 3. Latencias de los potenciales provocados somatosensoriales en los ratones transgénicos.** Mediciones de las latencias al pico de los potenciales provocados somatosensoriales registrados en los ratones ChR2. Para cada uno de los cinco individuos, se consideraron cuatro trazos elegidos de manera aleatoria.

Sujeto	Cepa	Nivel de ruido	Latencia (ms)	Sujeto	Cepa	Nivel de ruido	Latencia (ms)
Ratón 1	C57BL/6	RC	72.17	Ratón 1	C57BL/6	RA	56.23
Ratón 1	C57BL/6	RC	55.07	Ratón 1	C57BL/6	RA	39.71
Ratón 1	C57BL/6	RC	56.81	Ratón 1	C57BL/6	RA	66.67
Ratón 1	C57BL/6	RC	60	Ratón 1	C57BL/6	RA	76.52
Ratón 2	C57BL/6	RC	56.81	Ratón 2	C57BL/6	RA	49.28
Ratón 2	C57BL/6	RC	37.1	Ratón 2	C57BL/6	RA	37.68
Ratón 2	C57BL/6	RC	33.91	Ratón 2	C57BL/6	RA	41.45
Ratón 2	C57BL/6	RC	45.51	Ratón 2	C57BL/6	RA	48.7
Ratón 3	C57BL/6	RC	73.33	Ratón 3	C57BL/6	RA	37.68
Ratón 3	C57BL/6	RC	38.26	Ratón 3	C57BL/6	RA	55.07
Ratón 3	C57BL/6	RC	42.7	Ratón 3	C57BL/6	RA	37.57
Ratón 3	C57BL/6	RC	45.69	Ratón 3	C57BL/6	RA	62.34
Ratón 4	C57BL/6	RC	45.26	Ratón 4	C57BL/6	RA	58.5
Ratón 4	C57BL/6	RC	58.5	Ratón 4	C57BL/6	RA	60.2
Ratón 4	C57BL/6	RC	53.37	Ratón 4	C57BL/6	RA	42.27
Ratón 4	C57BL/6	RC	32.45	Ratón 4	C57BL/6	RA	30.32
Ratón 5	C57BL/6	RC	28.61	Ratón 5	C57BL/6	RA	30.32
Ratón 5	C57BL/6	RC	28.61	Ratón 5	C57BL/6	RA	30.32
Ratón 5	C57BL/6	RC	29.89	Ratón 5	C57BL/6	RA	26.9
Ratón 5	C57BL/6	RC	30.32	Ratón 5	C57BL/6	RA	27.75
Ratón 1	C57BL/6	RO	55.94				
Ratón 1	C57BL/6	RO	42.61				
Ratón 1	C57BL/6	RO	40.29				
Ratón 1	C57BL/6	RO	58.26				
Ratón 2	C57BL/6	RO	50.72				
Ratón 2	C57BL/6	RO	38.55				
Ratón 2	C57BL/6	RO	47.25				
Ratón 2	C57BL/6	RO	37.39				
Ratón 3	C57BL/6	RO	37.39				
Ratón 3	C57BL/6	RO	35.94				
Ratón 3	C57BL/6	RO	43.98				
Ratón 3	C57BL/6	RO	40.14				
Ratón 4	C57BL/6	RO	36.72				
Ratón 4	C57BL/6	RO	55.51				
Ratón 4	C57BL/6	RO	46.11				
Ratón 4	C57BL/6	RO	28.61				
Ratón 5	C57BL/6	RO	29.89				
Ratón 5	C57BL/6	RO	31.6				
Ratón 5	C57BL/6	RO	31.6				
Ratón 5	C57BL/6	RO	29.89				

**Tabla 4. Latencias de los potenciales provocados somatosensoriales en los ratones silvestres.**

Mediciones de las latencias al pico de los potenciales provocados somatosensoriales registrados en los ratones C57BL/6. Para cada uno de los cinco individuos, se consideraron cuatro trazos elegidos de manera aleatoria.

## 9. Discusión

Se observó que el ruido luminoso aplicado en la corteza de ratones transgénicos Thy-ChR2-YFP incrementó de manera significativa la amplitud de los potenciales provocados por la estimulación del arreglo completo de las vibrisas contralaterales de estos animales. Es interesante destacar que Méndez-Balbuena y colaboradores de 2015 obtuvieron resultados similares, en un estudio realizado en seres humanos. En el estudio mencionado se midió la amplitud del componente P100 del potencial provocado visual paralelamente a la aplicación de ruido de otra modalidad sensorial (táctil). Al igual que en el presente caso, la amplitud del componente P100 presentó un comportamiento resonante en función del nivel de ruido aplicado (Méndez-Balbuena y cols., 2015).

El efecto de facilitación de la amplitud del potencial provocado es atribuido sólo al ruido, pues, en idénticas condiciones, los ratones silvestres no presentaron efecto resonante alguno en las amplitudes de dichos potenciales. De esta manera, se descarta que el fenómeno observado pudiera deberse al calor generado por la fotoestimulación.

El potencial provocado, registrado en la superficie cortical se atribuye a los potenciales postsinápticos excitatorios de las células piramidales de la corteza de los barriles de los ratones (Di y cols., 1990). Las células piramidales de los ratones transgénicos utilizados, expresan ChR2 en sus membranas plasmáticas (Asrican y cols., 2013). Estas células son comandadas por las proyecciones tálamo-corticales, las proyecciones locales intracolumnares y por asas cortico-tálamo-corticales. Esta última vía es responsable de la activación de las columnas que rodean a la columna correspondiente a la vibrisa estimulada, y posee como mediador al complejo posterior del tálamo. En el presente estudio, la latencia al pico de los potenciales provocados somatosensoriales fue de  $46.22 \pm 14.03$  ms (media  $\pm$  desviación estándar), para los ratones silvestres en ausencia de ruido. Esta latencia corresponde a la del componente P2 del complejo de potencial provocado por la estimulación de las vibrisas en la rata. Este componente, es debido, presumiblemente, a la activación de las células piramidales supragranulares por

medio de un asa cortico-tálamo-cortical (Wróbel y cols., 1998). Este componente P2 puede ser observado en toda la superficie de la corteza de los barriles, inclusive en zonas distantes a la columna correspondiente a la vibrisa estimulada (Di y Barth, 1991). Esto es importante, debido a que, en el presente caso, se pudo observar la actividad debida a la estimulación del paquete completo de vibrisas, en cualquier punto de la corteza de barriles.

Los cambios de amplitud del potencial provocado serían provocados por un mayor reclutamiento de células capaces de responder a la estimulación de las vibrisas y a la fotoestimulación. La suma de este par de influencias, daría como resultado una mayor amplitud en la condición de ruido óptimo con respecto a la situación en la que el ruido luminoso se encuentra ausente. Sin embargo, ante un nivel más alto de ruido, la amplitud decae para adoptar valores inferiores con respecto a la condición de ruido óptimo. Este último fenómeno podría ser debido a la activación de interneuronas inhibitorias con influencia sobre las células piramidales infragranulares (Kublik y cols., 2001). Todo esto recuerda al fenómeno ampliamente descrito en sistemas sensoriales, conocido como resonancia estocástica.

En 2008, Lugo y colaboradores propusieron la existencia ubicua de sistemas que comparten mecanismos similares para el procesamiento proveniente de múltiples modalidades sensoriales. La información proveniente de modalidades sensoriales distintas converge en zonas de integración multisensorial (Wallace y cols., 1992; Meredith y cols., 1992). En estas regiones, el ruido de una modalidad sensorial modificaría la actividad de las neuronas, que también reciben información de otras vías sensoriales, y promovería la percepción de estímulos débiles (Lugo y cols., 2008). En el caso que se expone en el presente estudio, los dos estímulos aplicados, convergerían en la corteza de los barriles del ratón; el primero alcanzaría la corteza por medio de las vías trigémino-talámico-cortical (Petersen, 2007) y cortico-talámico-cortical (Diamond y cols., 1992), y el segundo, de manera directa (Arenkiel y cols., 2007). El estímulo ruidoso empleado sería equiparable al ruido presente a nivel celular (Faisal y cols., 2002). Alternativamente, el ruido podría asemejar a las

irregularidades dispuestas de manera aleatoria en la superficie del objeto que explora el roedor en la naturaleza.

Los roedores se valen del arreglo completo de vibrisas para la exploración de su entorno, mediante el movimiento rítmico de estos órganos sensoriales (Welker, 1964). La observación de la modulación de la amplitud del potencial provocado por parte del ruido, lleva a pensar que la percepción de las características de un objeto que es explorado por el ratón sería más eficiente en un ambiente con ruido de cierto nivel óptimo, particular para cada individuo.

Los resultados sugerirían la posibilidad de explorar los efectos del ruido en los potenciales de campo de estructuras subcorticales implicadas en la vía trigémino-talámico-cortical (Van der Loos, 1976; Ma, 1991). Sería interesante también, explorar los efectos del ruido durante la ejecución de una tarea de discriminación de superficies. Para llevar a cabo la fotoestimulación en el núcleo ventral posteromedial del tálamo, o en los núcleos trigeminales del tallo cerebral, estructuras de difícil acceso, se podría hacer uso de una fibra óptica comandada por medio de un micromanipulador (Castonguay y cols., 2014).

No es la primera vez que se observa el fenómeno de resonancia estocástica en un sistema que responde a estímulos táctiles y ópticos. Pei y colaboradores en 1996 reportaron este fenómeno, en una preparación de las células del sexto ganglio abdominal del langostino de río. En este estudio, la luz no presentaba un carácter ruidoso, sin embargo, la incidencia de luz en las células del ganglio abdominal sí aumentaba el ruido del sistema (Pei y cols., 1996). Este grupo reportó la observación del fenómeno de resonancia estocástica, medido en la relación señal-ruido de la actividad de las células del ganglio abdominal como función del nivel de ruido de dicho sistema. Las observaciones del presente trabajo complementarían los resultados de Pei y colaboradores en 1996, y se sugiere que en un arreglo experimental como el utilizado por este grupo de investigadores, podrían obtenerse resultados similares a los expuestos aquí.

Estos resultados estarían en concordancia con la evidencia que se tiene con respecto al aumento de la excitabilidad cerebral en el ser humano, después de estimulación ruidosa transcraneal aleatoria. Cuando se estimula de esta manera la corteza occipito-temporal del ser humano, se promueve la percepción de la identidad facial, mediante los mecanismos de la amplificación de señales característicos del fenómeno de resonancia estocástica (Romanska y cols., 2015).

Un detalle del diseño experimental es el hecho de que todos los ratones utilizados, con excepción de un individuo, fueron hembras. La excitabilidad neuronal cambia de acuerdo a la etapa del ciclo estral y menstrual en la que se encuentran los roedores (Maguire y cols., 2005), y las mujeres (Smith y cols., 1999), respectivamente. En los presentes experimentos, no se consideró la fase en la que se encontraban los roedores durante los experimentos, debido a que la naturaleza de la prueba estadística aplicada fue tal, que comparó la amplitud de la respuesta de un animal en una condición, con la amplitud de la respuesta del mismo animal sometido a una condición distinta. Por este motivo, la fase del ciclo estral en la que se encontraban los roedores no afecta las conclusiones.

Finalmente, se analizó el efecto del ruido sobre la latencia al pico de los potenciales provocados somatosensoriales. Un cambio en dicha latencia hubiera supuesto una modificación de la velocidad con la que la corteza somatosensorial procesa la información proveniente del exterior del animal. No se halló ningún efecto debido a la cepa del animal, ni al nivel de ruido aplicado sobre la latencia del potencial provocado.

## **10. Conclusión**

La amplitud del potencial provocado por la estimulación mecánica de las vibrisas, registrado en la corteza de los barriles del ratón Thy-ChR2-YFP es incrementada mediante la administración de luz cuyo comportamiento es aleatorio a través del tiempo. Este efecto no se replicó en el grupo de ratones silvestres. La latencia de dicho potencial no se ve modificada por la fotoestimulación ruidosa en ninguno de los dos grupos. El potencial observado, probablemente sea producto de la integración en la corteza de la información de múltiples columnas celulares. La observación correspondiente a la amplitud del potencial podría ser explicada en términos de la teoría de resonancia estocástica en sistemas sensoriales. Este trabajo sugiere la posibilidad de utilizar la fotoestimulación de regiones corticales con el fin de facilitar la percepción sensorial.

## 11. Anexos

### 11.1. Prueba de Friedman

Para la aplicación de la prueba de Friedman se consideraron los valores absolutos de las amplitudes de los potenciales provocados para cada condición de ruido (Ruido Alto, Ruido Óptimo y Ruido Cero). Dichos valores se agruparon en tablas, como la que se muestra en la Tabla 5A. Luego se asignaron valores arbitrarios (1, 2, 3) a cada uno de los valores obtenidos por las mediciones, como se muestra en la Tabla 5B.

**A**

Sujetos/ Grupo	RC	RO	RA
1	70	85	75
2	61	64	65
3	86	97	81
4	92	103	88
5	76	78	77
6	101	107	97

**B**

Sujetos/ Grupo	RC	RO	RA
1	1	3	2
2	1	2	3
3	2	3	1
4	2	3	1
5	1	3	2
6	2	3	1

**Tabla 5. Ejemplo de prueba de Friedman. A.** Datos originales. **B.** Datos, resultado de la asignación de valores arbitrarios.

Una vez hecho esto, se calculó la media de los valores obtenidos de todos los ratones. Así, se obtuvieron tres medias,  $m_{RC}$ ,  $m_{RO}$  y  $m_{RA}$ , como se muestra en la Tabla 2. Luego se procedió a calcular la Suma de Cuadrados (SC) de acuerdo a la expresión 1.

$$(1) \quad SC = \sum [n_g(m_g - m_t)^2]$$

En la que  $n_g$  es el número de unidades en cada grupo (RC, RO y RA),  $m_g$  es la media de cada grupo ( $m_{RC}$ ,  $m_{RO}$  y  $m_{RA}$  en nuestro ejemplo), y  $m_t$  está definida de acuerdo a la expresión 2.

$$(2) \quad m_t = (k+1)/2$$

En la que k es el número de grupos (3 en el presente caso).

Sujetos/ Grupo	RC	RO	RA
1	1	3	2
2	1	2	3
3	2	3	1
4	2	3	1
5	1	3	2
6	2	3	1
<b>Suma</b>	9	17	10
<b>Media</b>	1.5	2.83	1.66

**Tabla 6. Continuación del ejemplo de prueba de Friedman.** Muestra las sumatorias de los valores asignados a cada grupo y su respectiva media.

Se calcularon las sumas y las medias de los datos después de la asignación de los valores arbitrarios 1, 2 y 3.

Se continuó calculando la Suma de Cuadrados.

$$k = 3, \quad m_t = (3+1)/2, \quad m_t = 2$$

$$m_{RC} = 1.5, \quad m_{RO} = 2.83 \text{ y } m_{RA} = 1.66$$

$$SC = n_{RC}(m_{RC} - m_t)^2 + n_{RO}(m_{RO} - m_t)^2 + n_{RA}(m_{RA} - m_t)^2$$

$$SC = (6)(1.5-2)^2 + (6)(2.83-2)^2 + (6)(1.66-2)^2$$

$$SC = 6.327$$

Una vez calculada la suma de cuadrados (SC), se procedió a calcular la chi cuadrada ( $\chi^2$ ) de acuerdo con la expresión 3.

$$(3) \quad \chi^2 = SC / (k(k+1)/12)$$

De esta manera, se obtuvo que

$$\chi^2=6.327/((3)(4)/12) \quad \chi^2=6.327$$

Se comparó la resultante chi cuadrada con los cuantiles que albergan la probabilidad acumulada 0.95, 0.99 y 0.999 para la distribución chi cuadrada de k-1 grados de libertad (gl=2, en este ejemplo). Esto se realizó mediante los comandos mostrados a continuación en la consola del software libre R (*R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>*).

```
> qchisq(0.95, df=2)
```

```
[1] 5.991465
```

```
> qchisq(.99, df=2)
```

```
[1] 9.21034
```

```
> qchisq(.999, df=2)
```

```
[1] 13.81551
```

Se puede observar que la  $\chi^2$  obtenida se encuentra entre los cuantiles que albergan al 0.95 y al 0.99 de la probabilidad acumulada para la distribución chi cuadrada gl=2.

Luego, se calculó el valor de p mediante el siguiente comando en el mismo software libre, R.

```
> chicuad<-6.327
```

```
> p<-1-(pchisq(chicuad, df=2))
```

```
> p
```

```
[1] 0.04227751
```

De esta manera se puede observar que  $p=0.04$ ,  $p<0.05$ . Y se concluyó que existían diferencias estadísticamente significativas debidas a las distintas condiciones de ruido, en este ejemplo.

## 11.2. Prueba de Wilcoxon

En los casos en los que se hallaron diferencias significativas entre las amplitudes de los potenciales debidas a las distintas condiciones de ruido a las que se sometieron a los ratones, se realizó una prueba de Wilcoxon de rangos con signos para muestras empatadas, para encontrar si existían diferencias entre cada par de condiciones (Bellera y cols., 2010).

Para mostrar cómo se realizaría la prueba de Wilcoxon, se continuará el ejemplo que se comenzó en la sección anterior.

Debido a que la hipótesis científica indica que  $m_{RO} > m_{RA}$ , se realizó una prueba de una sola cola.

De los resultados obtenidos de las mediciones de los potenciales provocados, se construyó una tabla y se calcularon las diferencias de las amplitudes obtenidas en RO y RA como se muestra en la Tabla 7.

Sujetos/Grupo	RO	RA	RO-RA
1	85	75	10
2	64	65	-1
3	97	81	4
4	103	88	15
5	78	77	1
6	107	97	10

**Tabla 7. Ejemplo de prueba de Wilcoxon.** Muestra las diferencias entre las amplitudes de los potenciales medidos en una condición con respecto a otra condición.

Luego, se calcularon los valores absolutos de las diferencias obtenidas. Una vez obtenidos estos valores, se les asignó a cada sujeto un valor arbitrario (1, 2, 3, 4, 5, 6) de acuerdo a la magnitud de su diferencia. A este nuevo valor se le asignó el signo (+ o -) de la diferencia RO-RA para este ejemplo, como se muestra en la tabla 8. La suma de los valores de las diferencias positivas arroja un valor  $W+$ .

Sujetos/Grupo	RO	RA	RO-RA	RO-RA	Valor asignado	Valor asignado con signo de la diferencia RO-RA
2	64	65	-1	1	1.5	-1.5
5	78	77	1	1	1.5	1.5
3	97	81	4	4	3	3
1	85	75	10	10	4.5	4.5
6	107	97	10	10	4.5	4.5
4	103	88	15	15	5	5
						<b>W+=18.5</b>

Tabla 8. Continuación del ejemplo de prueba de Wilcoxon. Muestra cómo se obtiene W+.

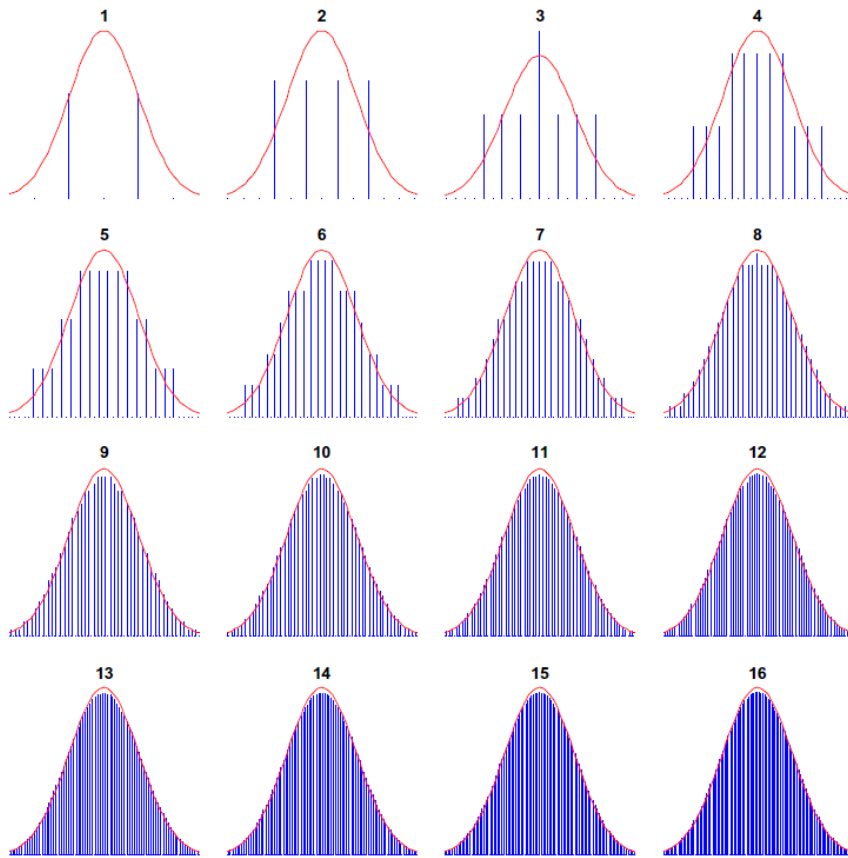
Para N número de pares, existirán  $2^N$  posibles configuraciones de los rangos  $\pm 1, \pm 2, \dots, \pm N$ . Si se designa como  $F(W+|N)$  a la frecuencia con que se presenta un  $W+$  particular para N cantidad de pares, entonces la probabilidad de obtener ese  $W+$  está dada por la expresión 4. La probabilidad de obtener un valor mayor a ese  $W+$  particular estará dada por la expresión 5.

$$(4) \quad P(W+|N) = F(W+|N) / 2^N$$

$$(5) \quad p(W+|N) = 1 - \sum_{s=0}^{s=W+} P(s|N)$$

En la expresión 5, s es un valor  $W+$ .

Cabe mencionar que, para muestras de mayor tamaño ( $N \geq 6$ ), la distribución W se aproxima a la distribución normal descrita por los parámetros  $\mu = N(N+1)/4$  y  $\sigma = N(N+1)(2N+1)/24$ , como se aprecia en la Figura 22.



**Figura 22. Aproximación de la distribución de Wilcoxon a la distribución normal.** En azul se aprecian histogramas de la distribución de Wilcoxon para  $1 \leq N \leq 16$ . En rojo, se muestra la curva de una distribución normal descrita por  $\mu = N(N+1)/4$  y  $\sigma = N(N+1)(2N+1)/24$ . Se aprecia que conforme  $N$  crece, la distribución de Wilcoxon se aproxima a la distribución normal. *Tomada de Bellera y cols., 2010.*

En el software libre R, del que ya se hizo mención, se realizó la prueba de Wilcoxon mediante los comandos que se muestran a continuación.

```
> RO<-c(85, 64, 97, 103, 78, 107)
```

```
> RA<-c(75, 65, 81, 88, 77, 97)
```

```
> wilcox.test(RO, RA, paired=TRUE, alternative="greater")
```

Wilcoxon signed rank test with continuity correction

data: RO and RA

V = 19.5, p-value = 0.03657

alternative hypothesis: true location shift is greater than 0

Warning message:

In wilcox.test.default(RO, RA, paired = TRUE, alternative = "greater") :

cannot compute exact p-value with ties

Otra manera de aplicar el test de Wilcoxon de rangos con signos, sería mediante el uso de los comandos siguientes para obtener p directamente. Esta forma alternativa debe arrojar los mismos resultados que con los comandos antes expuestos.

```
> p<-1-psignrank(18.5,6)
```

```
> p
```

```
[1] 0.03125
```

Luego, se rechazó la hipótesis nula  $\mu_{RO} = \mu_{RA}$ , y se aceptó aquella que plantea  $\mu_{RO} > \mu_{RA}$ , con  $\alpha=0.05$ .

## 12. Bibliografía

- Arenkiel, B. R., Peca, J., Davidson, I. G., Feliciano, C., Deisseroth, K., Augustine, G. J., Ehlers, M. D. & Feng, G. (2007). In Vivo Light-Induced Activation of Neural Circuitry in Transgenic Mice Expressing Channelrhodopsin-2. *Neuron*, 54, 205-218.
- Asrican, B., Augustine, G. J., Berglund, K., Chen, S., Chow, N., Deisseroth, K., Feng, G., Gloss, B., Hira, R., Hoffmann, C., Kasai, H., Malvika, K., Kim, J., Kudolo, J., Ming Lee, L., Qiang Lo, S., Mancuso, J., Matsuzaki, M., Nakajima, R., Qiu, L., Tan, G., Tang, Y., Ting, J. T., Tsuda, S., Wen, L., Zhang, X. & Zhao, S. (2013). Next-generation transgenic mice for optogenetic analysis of neural circuits. *Frontiers in Neural Circuits*, 7, 1-21.
- Ayling, O. G. S., Harrison, T.C., Boyd, J.D., Goroshkov, A. & Murphy, T. H. (2009). Automated light-based mapping of motor cortex by photoactivation of channelrhodopsin-2 transgenic mice. *Nature Methods*, 6, 219-224.
- Bellera, C. A., Julien, M. & Hanley, J. A. (2010). Normal approximations to the distributions of the Wilcoxon statistics: accurate to what n? Graphical insights. *Journal of Statistics Education*, 18, 1-17.
- Benzi, R., Parisi, G., Sutera, S. & Vulpiani, A. (1982). Stochastic resonance in climatic change. *Tellus*, 34, 10–18.
- Benzi, R., Sutera, S. & Vulpiani, A. (1981). The mechanism of stochastic resonance. *Journal of Physics A*, 14, L453–L457.
- Berndt, A., Prigge, M., Gradmann, D. & Hagemann, P. (2010). Two open states with progressive proton selectivities in the branched channelrhodopsin-2 photocycle. *Biophysical Journal*, 98, 753-761.

- Boyden, E. S., Zhang, F., Bamberg, E., Nagel, G., & Deisseroth, K. (2005). Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nature neuroscience*, 8(9), 1263-1268.
- Castonguay, A., Thomas, S., Lesage, F. & Casanova, C. (2014). Repetitive and retinotopically restricted activation of the dorsal lateral geniculate nucleus with optogenetics. *PLoS One*, 9, e94633.
- Chen-Bee, C. H., Zhou, Y., Jacobs, N. S., Lim, B. & Frostig, R. D. (2012). Whisker array functional representation in rat barrel cortex: transcendence of one-to-one topography and its underlying mechanism. *Frontiers in Neural Circuits*, 6.
- Chialvo, D. R. & Apkarian, A. V. (1993). One more reason why neurons need to be noisy. *Chaos in Biology and Medicine*, 2036, 57-63.
- Chuhma, N., Tanaka, K. F., Hen, R. & Rayport, S. (2011). Functional connectome of the striatal medium spiny neuron. *Journal of Neuroscience*, 31, 1183–1192.
- Collins, J. J., Imhoff, T. T. & Grigg, P. (1996). Noise-enhanced information transmission in rat SA1 cutaneous mechanoreceptors via aperiodic stochastic resonance. *Journal of Neurophysiology*, 76, 642–645.
- Collins, J. J., Imhoff, T. T. & Grigg, P. (1997). Noise-mediated enhancements and decrements in human tactile sensation. *Physical Review E*, 56, 923-926.
- Cordo, P., Inglis, J. T., Verschueren, S., Collins, J. J., Merfeld, D. M., Rosenblum, S., Buckley, S. & Moss, F. (1996A). Noise-enhanced tactile sensation. *Nature*, 383, 769.
- Cordo, P., Inglis, J. T., Verschueren, S., Collins, J.J., Merfeld, D. M., Rosenblum, S., Buckley, S. & Moss, F. (1996B). Noise in human muscle spindles. *Nature*, 383, 769–770.
- Danforth, C. H. (1925). Hair in its relation to questions of homology and phylogeny. *American Journal of Anatomy*, 36, 47-68.

- Davidson P. & Hardy M. H. (1952). The development of mouse vibrissae in vivo and in vitro. *Journal of Anatomy*, 86, 342-356.
- Dhruv, N. T., Niemi, J. B., Harry, J. D., Lipsitz, L. A. & Collins, J. J. (2002). Enhancing tactile sensation in older adults with electrical noise stimulation. *NeuroReport*, 13, 597-600.
- Di, S., & Barth, D. S. (1991). Topographic analysis of field potentials in rat vibrissa/barrel cortex. *Brain research*, 546(1), 106-112.
- Di, S., Baumgartner, C., & Barth, D. S. (1990). Laminar analysis of extracellular field potentials in rat vibrissa/barrel cortex. *Journal of Neurophysiology*, 63(4), 832-840.
- Diamond, M. E., Armstrong-James, M., & Ebner, F. F. (1992). Somatic sensory responses in the rostral sector of the posterior group (POm) and in the ventral posterior medial nucleus (VPM) of the rat thalamus. *Journal of Comparative Neurology*, 318(4), 462-476.
- Dörfl, J. (1982). The musculature of the mystacial vibrissae of the white mouse. *Journal of Anatomy*, 135, 147-154.
- Douglass, J. K., Wilkens, L., Pantazelou, E. & Moss, F. (1993). Noise enhancement of information transfer in crayfish mechanoreceptors by stochastic resonance. *Nature*, 365, 337-340.
- Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062- ZOO-1999. *Diario Oficial de la Federación 6 dic, 1999*. Estados Unidos Mexicanos.
- Faisal, A. A., Selen, L. P. & Wolpert, D. M. (2008). Noise in the nervous system. *Neuroscience*, 9, 292-303.
- Fauve, S. & Heslot, F. (1983). Stochastic resonance in a bistable system. *Physics Letters A*, 97, 5-7.

- Gammaitoni, L., Hanggi, P., Jung, P. & Marchesoni, F. (1998). Stochastic resonance. *Reviews of Modern Physics*, 70, 223–287.
- Gradinaru, V., Thompson, K. R. & Deisseroth, K. (2008). eNpHR: a Natronomonas halorhodopsin enhanced for optogenetic applications. *Brain Cell Biology*, 36, 129-139.
- Gradinaru, V., Zhang, F., Ramakrishnan, C., Mattis, J., Prakash, R., Diester, I., Goshen, I., Thompson, K. R. & Deisseroth, K. (2010). Molecular and cellular approaches for diversifying and extending optogenetics. *Cell*, 141, 154-165.
- Guide For the Care and Use of Laboratory Animals. (1985). Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health Research. U.S.
- Hänggi, P. (2002). Stochastic resonance in biology: How noise can enhance detection of weak signals and help improve biological information processing. *ChemPhysChem*, 3, 285–290.
- Harper, D. W. (1979). Signal detection analysis of effect of white noise intensity on sensitivity to visual flicker. *Perceptual and Motor Skills*, 48, 791–798.
- Hegemann, P. & Möglich, A. (2011). Channelrhodopsin engineering and exploration of new optogenetic tools. *Nature Methods*, 8, 39-42.
- Hernandez, V. H., Gehrt, A., Reuter, K., Jing, Z., Jeschke, M., Mendoza Sculz, A., Hoch, G, Bartels, M., Vogt, G., Garnham, C. W., Yawo, H., Fukazawa, Y., Augustine, G. J., Bamberg, E., Kügler, S., Salditt, T., de Hoz, L., Strenzke, N. & MoseR, T. (2014). Optogenetic stimulation of the auditory pathway. *Journal of Clinical Investigation*, 124, 1114-1129.
- Hubel, O. H. & Wiesel, T. N. (1969). Anatomical demonstration of columns in the monkey striate cortex. *Nature*, 221, 747-750.

- Huidobro, N. (2013). *Resonancia estocástica multisensorial en los colículos superiores del gato descerebrado* (Tesis de Maestría no publicada). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México.
- Jeanmonod, D., Rice, F. L. & Van der Loos, H. (1981). Mouse somatosensory cortex: alterations in the barrelfield following receptor injury at different early postnatal ages. *Neuroscience*, 6, 1503–1535.
- Kato, H. E., Zhang, F., Yizhar, O., Ramakrishnan, C., Nishizawa, T., Hirata, K., Ito, J., Aita, Y., Tsukazaki, T., Hayashi, S., Hegemann, P., Maturana, A. D., Ishitani, R., Deisseroth, K. & Nureki, O. (2012). Crystal structure of the channelrhodopsin light-gated cation channel. *Nature*, 482, 369-374.
- Kublik, E., Musiał, P., & Wróbel, A. (2001). Identification of principal components in cortical evoked potentials by brief surface cooling. *Clinical Neurophysiology*, 112(9), 1720-1725.
- Land, P., Buffer, S. Jr., Yaskosky, J. (1995). Barreloids in adult rat thalamus: three-dimensional architecture and relationship to somatosensory cortical barrels. *Journal of Comparative Neurology*, 355, 573–588.
- Levin, J. E. & Miller, J. P. (1996). Broadband neural encoding in the cricket cercal sensory system enhanced by stochastic resonance. *Nature*, 380, 165–168.
- Liske, H., Qian, X., Anikeeva, P., Deisseroth, K. & Delp, S. (2013). Optical control of neuronal excitation and inhibition using a single opsin protein, ChR2. *Scientific Reports*, 3, 3110.
- Lugo E., Doti, R. & Faubert, J. (2008). Ubiquitous crossmodal stochastic resonance in humans: auditory noise facilitates tactile, visual and proprioceptive sensations. *PLoS One*, 3, e2860.

- Ma, P. M. (1991). The barrelettes - architectonic vibrissal representations in the brainstem trigeminal complex of the mouse. *The Journal of Comparative Neurology*, 309, 161-199.
- Maguire, J. L., Stell, B. M., Rafizadeh, M., & Mody, I. (2005). Ovarian cycle-linked changes in GABAA receptors mediating tonic inhibition alter seizure susceptibility and anxiety. *Nature neuroscience*, 8(6), 797-804.
- Mancini, R. (2002). Op Amps for Everyone. Texas, USA: Texas Instruments.
- Manjarrez E., Diez-Martínez, O., Méndez, I. & Flores, A. (2002). Stochastic resonance in human electroencephalographic activity elicited by mechanical tactile stimuli. *Neuroscience Letters*, 324, 213–216.
- Manjarrez, E., Mendez, I., Martinez, L., Flores, A. & Mirasso, C. R. (2007). Effects of auditory noise on the psychophysical detection of visual signals: Crossmodal stochastic resonance. *Neuroscience Letters*, 415, 231–236.
- Manjarrez, E., Rojas-Piloni, G., Mendez, I. & Flores, A. (2003). Stochastic resonance within the somatosensory system: effects of noise on evoked field potentials elicited by tactile stimuli. *Journal of Neuroscience*, 23, 1997–2001.
- McNamara, B., Wiesenfeld, K. & Roy, R. (1988). Observation of stochastic resonance in a ring laser. *Physical Review Letters*, 60, 2626–2629.
- Méndez-Balbuena, I., Huidobro, N., Silva, M., Flores, A., Trenado, C., Quintanar, L., Arias-Carrión, O., Kristeva, R. & Manjarrez, E. (2015). Effect of mechanical tactile noise on the amplitude of visual evoked potentials: Multisensory stochastic resonance. *Journal of Neurophysiology*, jn-00457.

- Mendez-Balbuena, I., Manjarrez, E., Schulte-Monting, J., Huethe, F., Tapia, J. A., Hepp-Reymond, M. C. & Kristeva, R. (2012). Improved sensorimotor performance via stochastic resonance. *Journal of Neuroscience*, *32*, 12612–12618.
- Mori, T. & Kai, S. (2002). Noise-induced entrainment and stochastic resonance in human brain waves. *Physical Review Letters*, *88*, 1– 4.
- Mountcastle, V. B. (1957). Modality and topographic properties of single neurons of cat's somatic sensory cortex. *Journal of Neurophysiology*, *20*, 408-434.
- Nagel, G., Szellas, T., Huhn, W., Kateriya., Adeishvili, N., Berthold, P., Ollig, D., Hegemann, P. & Bamberg, E. (2003). Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, *100*, 13940-13945.
- Natasha G., Tan, A., Farhatnia, Y., Rajadas, J., Hamblin, M. R., Khaw, P. T., Seifalian, A. M. (2013). Channelrhodopsins: visual regeneration and neural activation by a light switch. *New Biotechnology*, *30*, 461-474.
- Paxinos, G., & Franklin, K. B. (2001). The mouse brain in stereotaxic coordinates. Academic Press. *San Diego*.
- Pei, X., Wilkens, L. A. & Moss, F. (1996). Light enhances hydrodynamic signaling in the multimodal caudal photoreceptor interneurons of the crayfish. *Journal of Neurophysiology*, *76*, 3002–3011.
- Petreanu, L., Mao, T., Sternson, S. M., & Svoboda, K. (2009). The subcellular organization of neocortical excitatory connections. *Nature*, *457*(7233), 1142-1145.
- Pocock, R. I. (1914). On the facial vibrissae of mammals. *Proceedings of the Zoological Society of London*, *60*, 889-912.

- Priplata, A., Niemi, J., Salen, M., Harry, J., Lipsitz, L. A. & Collins, J. J. (2002). Noise-enhanced human balance control. *Physical Review Letters*, 89, 238101-1-238101-4.
- Richardson, K. A., Imhoff, T. T., Grigg, P. & Collins, J. J. (1998). Using electrical noise to enhance the ability of humans to detect subthreshold mechanical cutaneous stimuli. *Chaos*, 8, 599-603.
- Romanska, A., Rezlescu, C., Susilo, T., Duchaine, B. & Banissy, M. J. (2015). High-frequency transcranial random noise stimulation enhances perception of facial identity. *Cerebral Cortex*, bhv016.
- Russell, D. F., Wilkens, L. A. & Moss, F. (1999). Use of behavioral stochastic resonance by paddle fish for feeding. *Nature*, 402, 291–294.
- Semba, K. & Egger M. D. (1986). The facial “motor” nerve of the rat: control of vibrissal movement and examination of motor and sensory components. *The Journal of Comparative Neurology*, 247, 144–158.
- Simonotto, E., Riani, M., Seife, C., Roberts, M., Twitty, J. & Moss, F. (1997). Visual perception of stochastic resonance. *Physical Review Letters*, 78, 1186-1189.
- Simons, D. J. (1978). Response properties of vibrissa units in rat SI somatosensory cortex. *Journal of Neurophysiology*, 41, 798-820.
- Smith, M. J., Keel, J. C., Greenberg, B. D., Adams, L. F., Schmidt, P. J., Rubinow, D. A., & Wassermann, E. M. (1999). Menstrual cycle effects on cortical excitability. *Neurology*, 53(9), 2069-2069.
- Smith, R. L. (1973). The ascending fiber projections from the principal sensory trigeminal nucleus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 148, 423–45.
- Sugitani, M., Yano, J., Sugai, T. & Ooyama, H. (1990). Somatotopic organization and columnar structure of vibrissae representation in the rat ventrobasal complex. *Experimental Brain Research*, 81, 346–352.

- Van Der Loos, H. (1976). Barreloids in mouse somatosensory thalamus. *Neuroscience Letters*, 2, 1–6.
- Van der Loos, H., & Woolsey, T. A. (1973). Somatosensory cortex: Structural alterations following early injury to sense organs. *Science*, 179, 395-398.
- Veinante, P. & Deschenes, M. (1999). Single- and multi-whisker channels in the ascending projections from the principal trigeminal nucleus in the rat. *Journal of Neuroscience*, 19, 5085–5095
- Vincent, S. B. (1912). The function of the vibrissae in the behavior of the white rat. *Behavior Monographs*, 1, 1-81.
- Vincent, S. B. (1913). The tactile hair of the white rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 23, 1-36.
- Wang, H., Peca, J., Matsuzaki, K., Noguchi, J., Qiu, L., Wang, D., Zhang, F., Boyden, E., Deisseroth, K., Kasai, H., Hall, W. C., Feng, G. & Augustine, G. J. (2007). High-speed mapping of synaptic connectivity using photostimulation in Channelrhodopsin-2 transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 104, 8143-8148.
- Welker C. (1971). Microelectrode delineation of fine grain somatotopic organization of (Sml) cerebral neocortex in albino rat. *Brain Research*, 26, 259–275.
- Welker, W. I. (1964). Analysis of sniffing of the albino rat. *Behaviour*, 22, 223-244.
- Wiesenfeld K. & Jaramillo, F. (1998). Minireview of stochastic resonance. *Chaos*, 8, 539–548.
- Woolsey, T. A. & Van der Loos, H. (1970). The structural organization of layer IV in the somatosensory region (SI) of mouse cerebral cortex. The description of a cortical field composed of discrete cytoarchitectonic units. *Brain Research*, 17, 205-242.

- Wróbel, A., Kublik, E., & Musiał, P. (1998). Gating of the sensory activity within barrel cortex of the awake rat. *Experimental brain research*, 123(1-2), 117-123.
- Zhang, F., Wang, L. P., Boyden, E. S. & Deisseroth K. (2006). Channelrhodopsin-2 and optical control of excitable cells. *Nature Methods*, 3, 785-792.
- Zhao, S., Ting, J. T., Atallah, H. E., Qiu, L., Tan, J., Gloss, B., Augustine, G. J., Deisseroth, K., Luo, M., Graybiel, A. M. & Feng, G. (2011). Cell-type specific Channelrhodopsin-2 optogenetic mice for dissecting neural circuitry function. *Nature Methods*, 8, 745-752.
- Zucker, E., Welker, W. I. (1969). Coding of somatic sensory input by vibrissae neurons in the rat's trigeminal ganglion. *Brain Research*, 12, 138–156.