



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Instituto de Fisiología



Laboratorio de Neurofisiología Integrativa y Neurofísica

RUIDO NEURONAL EN LA RESONANCIA ESTOCÁSTICA  
SENSORIAL Y MULTISENSORIAL: DE LA NEURONA AL  
HUMANO

Tesis que presenta

M. en C. NAYELI HUIDOBRO GONZÁLEZ

Para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Director de Tesis:

DR. ELIAS MANJARREZ LÓPEZ

Puebla, Pue., 2 de febrero de 2018

# ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS 5

ÍNDICE DE TABLAS

LISTA DE ABREVIATURASRESUMEN

## CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

### ANTECEDENTES

¿Qué es el ruido?

Ruido interno y externo en el sistema nervioso central

Caracterización de la resonancia estocástica

Resonancia estocástica en los sistemas biológicos

Resonancia estocástica en la vía visual

Resonancia estocástica en la vía auditiva

Resonancia estocástica en el sistema somatosensorial

Resonancia estocástica multisensorial

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### HIPÓTESIS

### OBJETIVOS

#### GENERALES

#### PARTICULARES

## CAPÍTULO 2. EFECTO DEL RUIDO OPTOGENÉTICO SOBRE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA CORTICAL DE RATONES TRANSGÉNICOS THY1CHR2-YFP Y RATONES SILVESTRES C57

### INTRODUCCIÓN

### MATERIAL Y MÉTODOS

Procedimientos generales

Estimulación mecánica

Fotoestimulación ruidosa optogenética

Protocolo de estimulación

Análisis de datos  
Análisis estadístico  
Análisis histológico

## RESULTADOS

Efecto de la fotoestimulación ruidosa optogenética sobre la relación señal-ruido de los potenciales provocados somatosensoriales de ratones transgénicos y no transgénicos

Efecto de la fotoestimulación ruidosa optogenética sobre la relación señal-ruido de los potenciales extracelulares multiunitarios de ratones transgénicos y no transgénicos y en un modelo de neuronas que expresan ChR2

## CAPÍTULO 3. EFECTO DEL RUIDO AUDITIVO Y TÁCTIL SOBRE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA VISUAL DE LOS COLÍCULOS SUPERIORES

### INTRODUCCIÓN

### MATERIAL Y MÉTODOS

Procedimientos generales  
Estimulación visual  
Estimulación ruidosa auditiva y táctil  
Protocolo de estimulación  
Análisis de datos  
Análisis estadístico  
Análisis histológico

### RESULTADOS

Efecto del ruido auditivo, ruido táctil y ruido combinado auditivo-táctil en los potenciales provocados visuales intracolículos y en la actividad extracelular unitaria y multiunitaria de los colículos superiores

Actividad extracelular unitaria de neuronas que responden a estímulos periódicos visuales y a estímulos ruidosos auditivos

Actividad extracelular unitaria de neuronas que responden a estímulos periódicos visuales y a estímulos ruidosos táctiles

Actividad extracelular unitaria de neuronas que responden a estímulos periódicos visuales y a estímulos ruidosos auditivos-táctiles

## CAPÍTULO 4. EFECTO DEL RUIDO COMBINADO AUDITIVO Y TÁCTIL SOBRE LA ONDA EEG P100

### INTRODUCCIÓN

### MATERIAL Y MÉTODOS

Procedimientos generales

Criterios de inclusión/exclusión/eliminación

Paradigma experimental

Estimulación visual

Estimulación ruidosa auditiva y táctil

Estimulación multisensorial

Registro de los PPVs durante la estimulación multisensorial

Análisis de datos

Análisis estadístico

### RESULTADOS

## CAPÍTULO 5

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Efecto de la Fotoestimulación Ruidosa Optogenética sobre la relación señal-ruido de los potenciales provocados somatosensoriales de ratones transgénicos y no transgénicos

Efecto de la estimulación ruidosa multisensorial en la actividad eléctrica producida por estímulos visuales registrados en los colículos superiores

Efecto de la estimulación ruidosa multisensorial en la actividad eléctrica producida por estímulos visuales registrados en la corteza occipital

### CONCLUSIONES

*De los resultados de la fotoestimulación ruidosa optogenética*

*De los resultados de la fotoestimulación ruidosa auditiva, táctil y auditiva-táctil en las señales visuales de los colículos superiores*

*De los resultados de la fotoestimulación ruidosa auditiva, táctil y auditiva-táctil en el componente P100 de los PPVs registrados en la corteza occipital de humanos*

### BIBLIOGRAFÍA

## ANEXOS

De la neuroanatomía de la corteza somatosensorial de ratones (vía trigémino-talámico-cortical)

De la neuroanatomía de los colículos superiores del gato

Conexiones de los colículos superiores

Declaración de Helsinki

Carta de Consentimiento Informado

Cuestionario

## ARTÍCULOS DERIVADOS DEL TRABAJO DE TESIS

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** | *Cronología de la integración multisensorial.*
- Figura 2** | *Ruido externo e interno en el SNC.*
- Figura 3** | *Esquema representativo de las características de la resonancia estocástica.*
- Figura 4** | *Figura del artículo de Simonotto y cols., 2007.*
- Figura 5** | *Figura del artículo de Long y cols., 2004.*
- Figura 6** | *Figura del artículo de Manjarrez y cols., 2002.*
- Figura 7** | *Figura del artículo de Manjarrez y cols., 2002.*
- Figura 8** | *Figura del artículo de Manjarrez y cols., 2007.*
- Figura 9** | *Efecto de la EETRA en la precisión de los estímulos visuales.*
- Figura 10** | *Fotoestimulación in vivo de las neuronas corticales de la capa 5 que expresan ChR2 en el bulbo olfatorio.*
- Figura 11** | *Fotoestimulación ruidosa optogenética.*
- Figura 12** | *Esquema del arreglo experimental de la actividad multiunitaria durante la fotoestimulación ruidosa optogenética de la corteza de los barriles.*
- Figura 13** | *Método para calcular el área de la RSR de los PEMs de la corteza somatosensorial.*
- Figura 14** | *Efecto de la FRO en la amplitud de los PPSs y del área normalizada de la RSR en la corteza somatosensorial de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP.*
- Figura 15** | *Efecto de la FRO en el área normalizada de la RSR en la corteza somatosensorial de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP durante la aplicación de estímulos mecánicos de alta intensidad y diferentes niveles de ruido.*
- Figura 16** | *Efecto de la FRO en la amplitud de los PPSs y del área normalizada de la RSR en la corteza somatosensorial de ratones silvestres de la cepa C57 (WT).*
- Figura 17** | *Efectos de la FRO en RSR de los PEMs de neuronas de la corteza Somatosensorial de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP.*
- Figura 18** | *Efectos de la FRO en RSR de los PEMs de neuronas de la corteza somatosensorial de ratones C57.*
- Figura 19** | *Efectos de la FRO simulada en un modelo de neuronas que expresan ChR2.*

**Figura 20|** *Aumento multisensorial de una neurona de los colículos superiores.*

**Figura 21|** *Efectos del ruido auditivo en la amplitud de los potenciales provocados visuales de los colículos superiores.*

**Figura 22|** *Esquema del arreglo experimental para la estimulación ruidosa auditiva y táctil y la estimulación periódica visual.*

**Figura 23|** *Efecto del ruido auditivo y del ruido táctil en la amplitud de los PPVs intracolículos.*

**Figura 24|** *Rastros de actividad eléctrica de las neuronas multisensoriales de los colículos superiores.*

**Figura 25|** *Distribución de las neuronas multisensoriales en los estratos superficiales, intermedios y profundos de los colículos superiores.*

**Figura 26|** *Efecto del ruido auditivo en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos superficiales de los colículos superiores.*

**Figura 27|** *Efecto del ruido auditivo en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos intermedios de los colículos superiores.*

**Figura 28|** *Efecto del ruido auditivo en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos profundos de los colículos superiores.*

**Figura 29|** *Efecto del ruido táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos superficiales de los colículos superiores.*

**Figura 30|** *Efecto del ruido táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos intermedios de los colículos superiores.*

**Figura 31|** *Efecto del ruido táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos profundos de los colículos superiores.*

**Figura 32|** *Efecto del ruido táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica*

*de neuronas multisensoriales de los estratos superficiales de los colículos superiores.*

**Figura 33|** *Efecto del ruido táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica*

*de neuronas multisensoriales de los estratos intermedios de los colículos superiores.*

**Figura 34|** *Efecto del ruido táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica*

*de neuronas multisensoriales de los estratos intermedios de los colículos superiores.*

**Figura 35|** *Efecto del ruido combinado auditivo-táctil en el número de eventos/muestras de*

*la actividad eléctrica de neuronas visuales que responden a ruido auditivo y ruido táctil.*

**Figura 36|** *Estadística del efecto del ruido auditivo, del ruido táctil y del ruido combinado auditivo-táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas visuales.*

**Figura 37|** *Cambios globales de los diferentes niveles de ruido auditivo, del ruido táctil y del ruido combinado auditivo-táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas visuales.*

**Figura 38|** *Cambios globales de los diferentes niveles tipos de estimulación sensorial con respecto al número de eventos / muestras de la actividad eléctrica de neuronas visuales.*

**Figura 39|** *Aumento multisensorial del ruido intermedio auditivo, táctil y auditivo-táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas que responden a estímulos visuales.*

**Figura 40|** *Esquema del arreglo experimental para la estimulación ruidosa auditiva y táctil*

*y la estimulación periódica visual.*

**Figura 41** | *Promedio de PPVs registrados en la región occipital para tres niveles de ruido (cero, intermedio y alto) en tres condiciones de ruido: auditivo, táctil y auditivo-táctil.*

**Figura 42** | *Efecto del ruido auditivo, del ruido táctil y del ruido auditivo-táctil en la amplitud de los PPVs de la corteza occipital primaria.*

**Figura 43** | *Efecto del ruido auditivo, del ruido táctil y del ruido combinado auditivo-táctil en la amplitud de los PPVs (P100).*

**Figura 44** | *LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 1.*

**Figura 45** | *LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 2.*

**Figura 46** | *LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 3.*

**Figura 47** | *LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 4.*

**Figura 48** | *LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 5.*

**Figura 49** | *LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 6.*

**Figura 50** | *LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 7.*

**Figura 51** | *LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 8.*

**Figura 52** | *LORETA de la región occipital durante el estímulo visual + ruido intermedio en tres protocolos de estimulación multisensorial.*

**Figura 53** | *Nomenclatura de las vibrisas en ratones.*

**Figura 54** | *Disposición de los elementos celulares de la retina.*

**Figura 55** | *Vía visual.*

**Figura 56** | *Citoarquitectura de los colículos superiores.*

**Figura 57|** *Morfología de las neuronas de los colículos superiores.*

## ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1|** *Datos del análisis estadístico no paramétrico para la comparación de la  $RSR_{AN}$  en diferentes niveles de fotoestimulación ruidosa optogenética en seis ratones transgénicos *Thy1-ChR2-YFP* y 5 ratones silvestres C57 (WT).*
- Tabla 2|** *Datos del análisis estadístico paramétrico para la comparación del área de la RSR en diferentes niveles de fotoestimulación ruidosa optogenética en ratones transgénicos *Thy1-ChR2-YFP*, ratones silvestres C57 (WT) y simulaciones de un modelo de neuronas que expresan *ChR2*.*
- Tabla 3|** *Datos del análisis estadístico paramétrico para la comparación de la amplitud de los PPVs en diferentes niveles de ruido auditivo y ruido táctil.*
- Tabla 4|** *Datos de la clasificación de las neuronas multisensoriales coliculares de acuerdo al sitio de registro y por su tipo de respuesta.*
- Tabla 5|** *Datos del análisis estadístico paramétrico para la comparación del número de eventos/ muestras en diferentes niveles de ruido auditivo, ruido táctil y ruido combinado auditivo-táctil.*
- Tabla 6|** *Datos de la clasificación de las neuronas multisensoriales coliculares de acuerdo a su máxima respuesta generada por diferentes niveles de ruido.*
- Tabla 7|** *Datos del análisis estadístico paramétrico para la comparación de la amplitud de los PPVs en diferentes niveles de ruido auditivo.*

## RESUMEN

Una de las preguntas que se han pretendido responder en el contexto de los procesos estocásticos en el área biológica es ¿cómo el ruido impacta la actividad eléctrica neuronal? y ¿qué tipo de ruido influye en dicha actividad?

Cuando se registra la actividad eléctrica neuronal *in vivo* es posible observar que existe un alto grado de irregularidad. Además, los trenes de disparo de neuronas individuales están lejos de ser periódicos y al parecer se generan aleatoriamente. Inclusive si el registro de la actividad neuronal se hace audible por medio de un altavoz, básicamente

escuchamos ruido. Esto ocurre porque la actividad neuronal es intrínsecamente ruidosa (Moss y cols., 1996). No obstante, la cuestión es si dicha actividad es sólo ruido o una forma eficiente de codificación de la información.

En el presente trabajo de tesis empleamos un modelo de ratón transgénico (que expresa la proteína canalrodopsina 2, para observar el efecto de la fotoestimulación ruidosa optogenética en la actividad eléctrica neuronal de la corteza somatosensorial de *barriles* producida por la protracción *en masa* de las vibrisas de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP y ratones silvestres C57. De manera interesante, encontramos que la aplicación de una intensidad intermedia de fotoestimulación ruidosa optogenética en la corteza de los barriles de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP amplificó significativamente la relación señal-ruido de los potenciales provocados somatosensoriales y la relación señal-ruido de la actividad eléctrica multunitaria producida por la estimulación de las vibrisas.

En el presente trabajo de tesis se emplearon tres modelos experimentales para explicar el efecto la estimulación ruidosa en las señales provocadas por la estimulación periódica sensorial. Interesantemente, encontramos que la aplicación de una intensidad intermedia de fotoestimulación ruidosa optogenética en la corteza de los barriles de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP amplificó significativamente la relación señal-ruido de los potenciales provocados somatosensoriales y la relación señal-ruido de la actividad eléctrica multunitaria producida por la estimulación de las vibrisas. Además, en los colículos superiores observamos que la adición de ruido combinado auditivo-táctil produjo un mayor aumento en las descargas de las neuronas multisensoriales que responden a estímulos periódicos visuales. Por otra parte, en los experimentos realizados en humanos observamos el efecto facilitador de la estimulación ruidosa combinada auditiva-táctil en las respuestas visuales, de manera consistente con nuestros resultados de las neuronas multisensoriales coliculares.

Estas evidencias son importantes, ya que aportan datos significativos para comprender con mayor detalle el papel funcional del la estimulación en las señales

intrínsecas del sistema nervioso central. Nuestros resultados representan una aportación original y de gran valor en la Neurofisiología de los sistemas sensoriales.

---

---

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN GENERAL

---

---

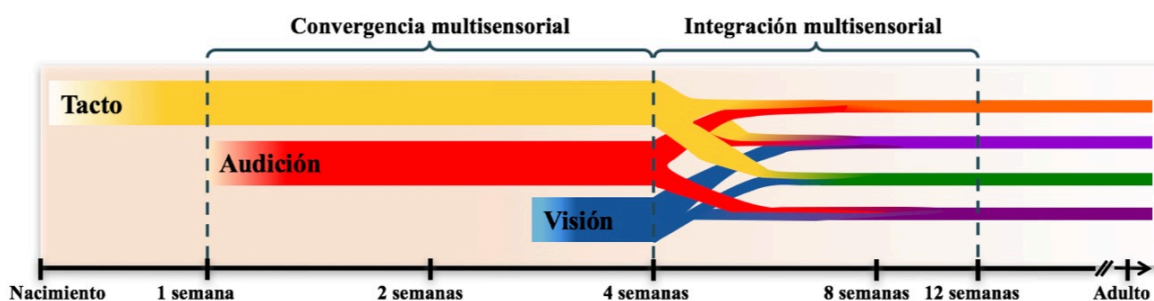
### ANTECEDENTES

En el ambiente existen múltiples eventos que emiten diversos tipos de energía (por ejemplo, radiación electromagnética, energía electroquímica, ondas de presión, etcétera), que están asociados a eventos biológicamente significativos, los cuales pueden tener un impacto en la supervivencia de una especie. Resulta fascinante pensar cómo la evolución permitió la agregación de diferentes sistemas sensoriales para maximizar la recolección de información en diferentes nichos ecológicos.

Cada uno de los sistemas sensoriales de un organismo se ajusta a una forma diferente de energía, y pueden compensarse entre sí cuando es necesario, ejemplo de ello es el oído y el tacto que compensan la visión en condiciones de oscuridad. Dada la biodiversidad, no es sorprendente que los seres vivos posean capacidades sensoriales muy divergentes. Sin embargo, por complejas que parezcan estas variantes, comparten una innovación común: la capacidad de usar los sentidos sinérgicamente.

Hoy en día es interesante conocer cómo estos los sentidos trabajan conjuntamente para percibir e interactuar con el medio ambiente. Dicha interacción se conoce como *integración multisensorial* (IM), la cual se describe como un proceso por el cual la información de dos o más sentidos se combinan (*integran*) en el sistema nervioso central (SNC) y cómo interactúan entre sí. Este proceso se lleva a cabo en el mesencéfalo y la corteza cerebral y permite formar una percepción coherente del entorno.

Es importante mencionar, que la capacidad de la IM surge por la maduración de las propiedades sensoriales que se generan como un proceso postnatal, el cual es resultado de las interacciones con el medio ambiente. Desde el nacimiento hasta, el sistema somatosensorial es el único que opera en las estructuras que se encargan de la IM. Es hasta poco antes de terminar la primera semana después del nacimiento (ddn) que el sistema auditivo participa en dicho proceso y es hasta la tercera semana postnatal que el sistema auditivo inicia su participación en un proceso conocido como *convergencia multisensorial*. A partir de la 4 semana ddn hasta la edad adulta inicia la *integración multisensorial* (Stein y cols., 2009, Stein y cols., 2014) (Figura 1).



**Figura 1| Cronología de la integración multisensorial.** Algunos grupos neuronales responden al tacto prenatalmente. La audición llega a ser efectiva poco antes del término de la primera semana postnatal y la visión aparece hasta la tercera semana. La integración multisensorial ocurre hasta la cuarta semana postnatal (Modificado de Stein y cols., 2014).

Al estar rodeados de múltiples objetos que nos estimulan sensorialmente, el SNC es responsable de *integrar* o *segregar* dicha información. El procesamiento de la información multisensorial involucra la transmisión de la actividad eléctrica neuronal desde los órganos sensoriales hasta la corteza cerebral. Durante el ascenso de la dicha información multisensorial son diversas las estructuras del SNC que participan en su procesamiento, integración y proyección.

Sin embargo, cómo el SNC procesa la información multisensorial en ambientes ruidosos, cómo el ruido externo impacta al ruido interno del SNC, cuáles son los *beneficios* del ruido multisensorial, son algunos cuestionamientos que surgen en la Neurofisiología.

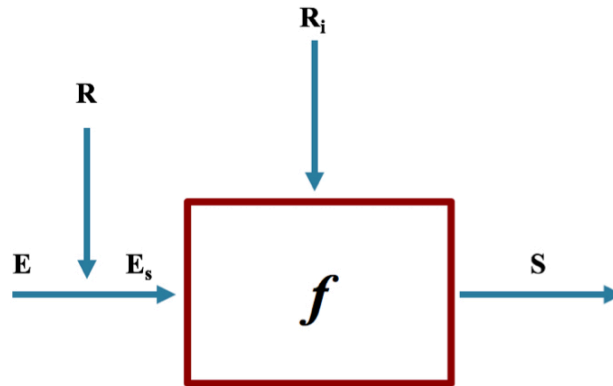
## ¿Qué es el ruido?

El ruido se describe como una señal aperiódica y aleatoria, cuyo espectro de potencia (EP) es una constante, dado que el éste contiene a todas las frecuencias. Cuando la gráfica del EP no es una constante, el ruido es coloreado. Una señal contiene ruido cuando una de sus variables presenta una dispersión alrededor de un valor central, que usualmente no es predecible (Segundo y cols., 1994). Además, el ruido puede funcionar como una señal auxiliar estocástica, la cual puede actuar en “beneficio” o “detrimento” de un sistema lineal o no lineal.

Una señal ruidosa puede definirse en términos del espectro de potencia de la *serie en el tiempo* que la describe. Además, existen gran cantidad de variables que evolucionan en el tiempo en forma ruidosa, cuyos espectros de potencia son del tipo de ruido blanco, gris, browniano, etcétera. Interesantemente, la actividad eléctrica basal del SNC puede considerarse como una serie en el tiempo y la cual posee un espectro de potencia de tipo ruidoso, cuasi-periódico, caótico, etcétera; conocido como *ruido interno* (Freeman, 1996).

## Ruido interno y externo en el sistema nervioso central

El SNC puede representarse como una caja negra o sistema con características no lineales. Este sistema integra múltiples señales externas, las cuales pueden estar *contaminadas* por ruido ambiental o *ruido externo*. El SNC opera no solo con fuentes de ruido externo, también lo hace con ruido interno. De este modo, dicho sistema, posee *entradas ruidosas*, las cuales influyen en sus *respuestas de salida*. Además, la relación entre estas variables implica una función de transferencia u operador del sistema en presencia de fuentes de ruido externo e interno (Figura 2), (Segundo y cols., 1994).



**Figura 2| Ruido externo e interno en el SNC.** Los grupos de neuronas se representan como una caja negra o sistema no lineal.  $E_s$  corresponde a la entrada al sistema, la cual es sumatoria de señales ( $E$ ) y ruido ( $R$ ).  $f$  es el operador de transferencia, el cual contiene la influencia de ruido interno ( $R_i$ ). La salida del sistema ( $S$ ) es una variable estocástica (Modificado de Segundo y cols., 1994).

El ruido juega un papel importante en el entendimiento y la descripción de la naturaleza. En contraste al papel del ruido como un detrimento, el cual debería ser minimizado si es posible. No obstante, bajo ciertas condiciones las señales ruidosas pueden desempeñar una función constructiva en sistemas no lineales que están lejos del equilibrio (Zeng y cols., 2000; Volkov y cols., 2005).

Existen múltiples estudios que demuestran la influencia del ruido externo en el SNC (Hänggi, 2002, Manjarrez y cols., 2002, Martínez y cols., 2007). Sin embargo, ¿dónde surge el ruido interno? La fuente primaria de ruido interno en el SNC se origina por la actividad sináptica de fondo, la cual produce una alta variabilidad en las respuestas neuronales (Bindman y cols., 1964). En los sistemas neuronales no lineales, el ruido puede incrementar la detección y transmisión de señales débiles (Moss y cols., 1994). Éste fenómeno se conoce como resonancia estocástica (RE).

En este contexto, la RE es un fenómeno donde la aplicación de ruido a un sistema no lineal permite la detección de señales débiles o amplifica la información contenida en una señal (Benzi y cols., 1981; Collins y cols., 1996, Simonotto y cols., 1997; Gammaitoni

y cols., 1998, Manjarrez y cols., 2002; Martínez y cols., 2007). Cuando se adiciona una cantidad óptima de ruido se propicia un aumento en las respuestas del sistema, si hay un incremento en la intensidad del ruido, esto provoca que se degrade la detección de la información (Gammaitoni y cols., 1998, Manjarrez y cols., 2007, Lugo y cols., 2008).

En general, la resonancia estocástica es una actividad inducida por ruido y describe la amplificación de la respuesta del sistema a una señal debida a un nivel de ruido óptimo (Segundo y cols., 1994; Collins y cols., 1996; Simonotto y cols., 1997; Zeng y cols., 2000; Manjarrez y cols., 2002; Méndez I, 2005; Volkov y cols., 2005; Martínez L, 2007; Manjarrez y cols., 2007).

### **Caracterización de la resonancia estocástica**

Existe una extensa información sobre los mecanismos que subyacen a la RE. No obstante, la explicación más aceptada es la provista por Moss y cols., (2004). La RE resulta de la convergencia de tres componentes: el *umbral*, el *ruido* y la *señal periódica*. En este contexto,

la información acarreada por el estímulo se codifica por el sistema en una secuencia de cruces supraumbrales. El *estímulo subumbral*, por sí solo, resulta indetectable y no produce respuesta alguna en el sistema no lineal. Pero si se adiciona ruido óptimo, los cruces por arriba del umbral ocurren con mayor probabilidad. Cuando se administra ruido de mayor intensidad, el estímulo comenzaría a parecerse al ruido mismo; siendo éste de naturaleza aleatoria, los cruces por arriba del valor umbral también lo serían, la consecuencia de esto sería la pérdida de la información de interés que se produce por el estímulo original (Figura 3A).

Lo anterior hace referencia a que el se debe adicionar al estímulo. Es decir, que la RE ocurre solo si el ruido y la señal se mezclan antes de ser detectados por el sistema. Pero, fue en 2002, Mori y Kai quienes evidenciaron lo contrario. Por lo anterior, realizaron experimentos en cinco sujetos a los cuales les adicionaron un estímulo visual subumbral

periódico al ojo derecho y diferentes intensidades de ruido Gaussiano visual el ojo izquierdo.

Es importante destacar, que a todos los sujetos les colocaron una pantalla entre ambos ojos para evitar la mezcla de estos dos estímulos en la periferia. Con esto aseguraron que las señales periódicas y ruidosas se detectaran por el sistema visual para su posterior integración en la corteza cerebral visual. A través de mediciones electroencefalográficas (EEG) de la región occipital de estos sujetos, demostraron que la RE ocurre dentro del SNC.

Es decir, la RE puede ocurrir en sistemas que procesan la información, con una señal de entrada y otra de salida. Además, la característica más notable de la RE es una amplificación de la señal de entrada debida al ruido. Sin embargo, ¿cómo cuantificar dicho fenómeno?

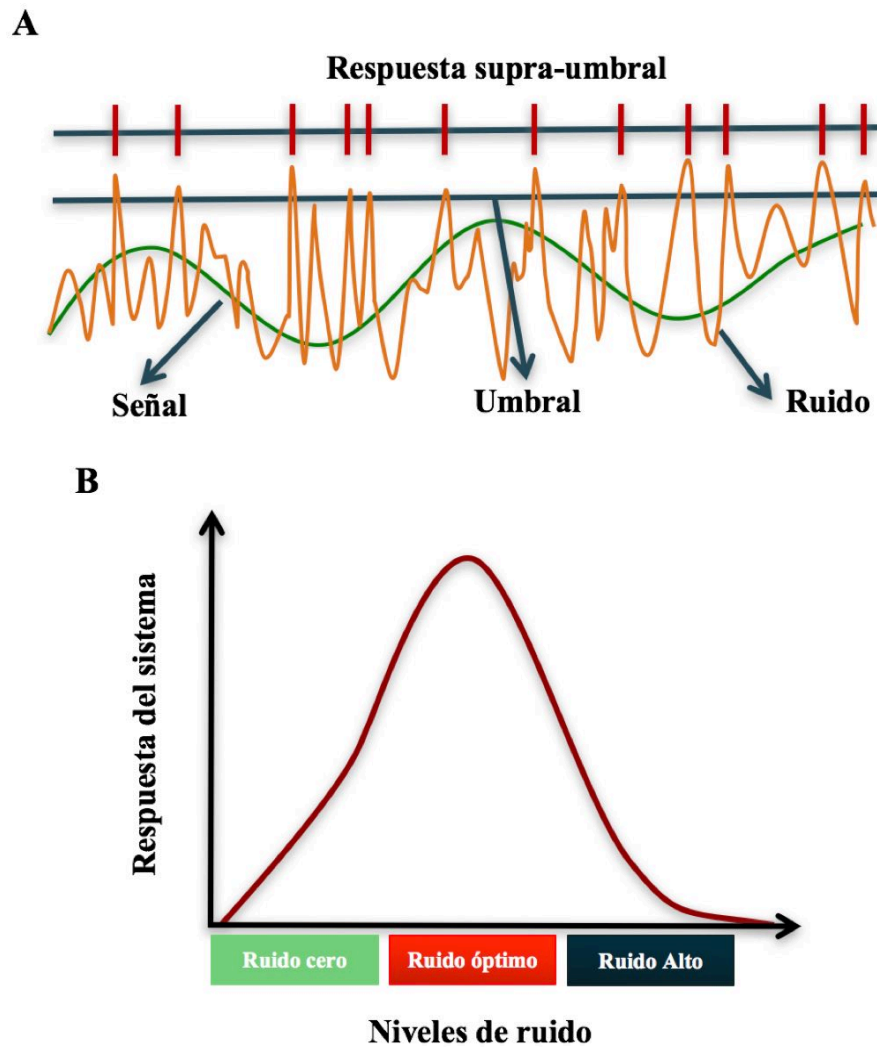
Algunos métodos empleados para evidenciar el fenómeno de RE (Gammaitoni y cols., 1998), son:

1. Amplificación del poder espectral,  $\eta$ .
2. Relación señal-ruido (RSR).
3. Densidad de distribución del tiempo de permanencia,  $p(\tau)$ ; también conocida como histograma del intervalo de tiempo entre espigas.
4. Amplitud de la respuesta.

La amplificación del poder espectral mide la razón entre la integral de la espiga del espectro de potencia de salida alrededor de la frecuencia de estimulación, con respecto a la integral del espectro de potencia total de la señal de entrada. La RSR se calcula a través de las densidades espectrales de la señal y del ruido alrededor de la frecuencia de la señal. Corresponde al cociente del área del espectro de la señal de salida durante la estimulación periódica y la estimulación ruidosa, con respecto, al espectro de potencia de la señal de salida con ruido solamente (Manjarrez y cols., 2002). El histograma de intervalo de tiempo entre espigas representa el disparo de una unidad que responde cuando la señal de entrada

es asistida por ruido. Éste permite cuantificar el efecto del ruido en la frecuencia de disparo de las neuronas. La adición de ruido incrementa la probabilidad de disparo de la neurona en relación al periodo promedio de sincronía con la señal periódica.

Cuando se construyen las gráficas para evidenciar la RE, es posible observar que para intensidades de ruido óptimo, la curva exhibe un valor máximo, y para intensidades de ruido alto, los valores decaen. El comportamiento en forma de U invertida es una característica típica de la RE (Figura 3B).



**Figura 3| Esquema representativo de las características de la resonancia estocástica.**

**A.** Mecanismo por el cual el ruido mejora la respuesta de un sistema no lineal a una señal débil. La detección de la señal está indicada como la respuesta supra-umbral. **B.** Curva típica de RE donde se muestra la respuesta del sistema versus los niveles de ruido. Para el

ruido de nivel bajo o alto, la respuesta del sistema es pequeña, mientras que en los niveles intermedios (óptimo) de ruido la respuesta es mayor, lo que resulta en una forma de U invertida (A. Modificado Moss y cols., 1998; B. Modificado de McDonnell y Abbott, 2009).

### **Resonancia estocástica en los sistemas biológicos**

En 1981, Benzi, Sutera y Vulpiani emplearon por primera vez el término de resonancia estocástica, para explicar las eras glaciales, que ocurrieron en la Tierra cada 100 000 años aproximadamente. Si bien la excentricidad de la tierra varía en este período, su efecto no sería suficiente para explicar un proceso tan determinístico. No obstante, propusieron que el cambio de la excentricidad y perturbaciones aleatorias (la cantidad de calor solar recibida, retenida y reflejada al espacio) pueden acentuar los efectos climáticos. Las perturbaciones aleatorias producen respuestas que mejoran, debido a que actúan de manera sinérgica con los cambios en la excentricidad de la órbita terrestre (Benzi y cols., 1981). Sin embargo, fue hasta 1983, que Fauve y Heslot dan la primera demostración experimental de la RE en un circuito electrónico. Ellos fueron los primeros en caracterizar el fenómeno en términos de la RSR.

Con el tiempo, el estudio de la resonancia estocástica se amplió para explicar una serie de mecanismos, desde los sistemas electrónicos hasta los sistemas neuronales (Fauve y Heslot, 1983; Douglass y cols., 1993; Morse y Evans, 1996; Manjarrez y cols., 2002, Volkov y cols., 2005, Mendez-Balbuena y cols., 2012, Trenado y cols., 2014). Douglass y cols. (1993) reportaron por primera vez la RE en el sistema sensorial de la cola de las langostas, siendo esta la primera evidencia de dicho fenómeno en el sistema nervioso de un ser vivo. Esto permitió la descripción de la RE en distintas preparaciones y sistemas neurofisiológicos de distintas especies, incluido el humano, así como en experimentos psicofísicos (Simonotto y cols., 1997, Long y cols., 2004), sistemas sensoriales y motores *in vivo* (Ward, 2003), neuronas (Reinker, 2004) y de canales iónicos (Bezrukov y Vodyanor, 1997, entre otros). Además otras áreas del conocimiento como la ingeniería ha empleado a la RE para el desarrollo de implantes cocleares (Morse y Evans, 1996), plantillas para el mejoramiento del equilibrio (Priplata y cols., 2006) y la aplicación de

vibraciones como auxiliares en el tratamiento de la sintomatología de la enfermedad de Parkinson (Jöbges y cols., 2002). Interesantemente, la característica unificadora de estos sistemas es el aumento de la sensibilidad de pequeñas perturbaciones con un nivel de ruido intermedio que resulte óptimo al sistema.

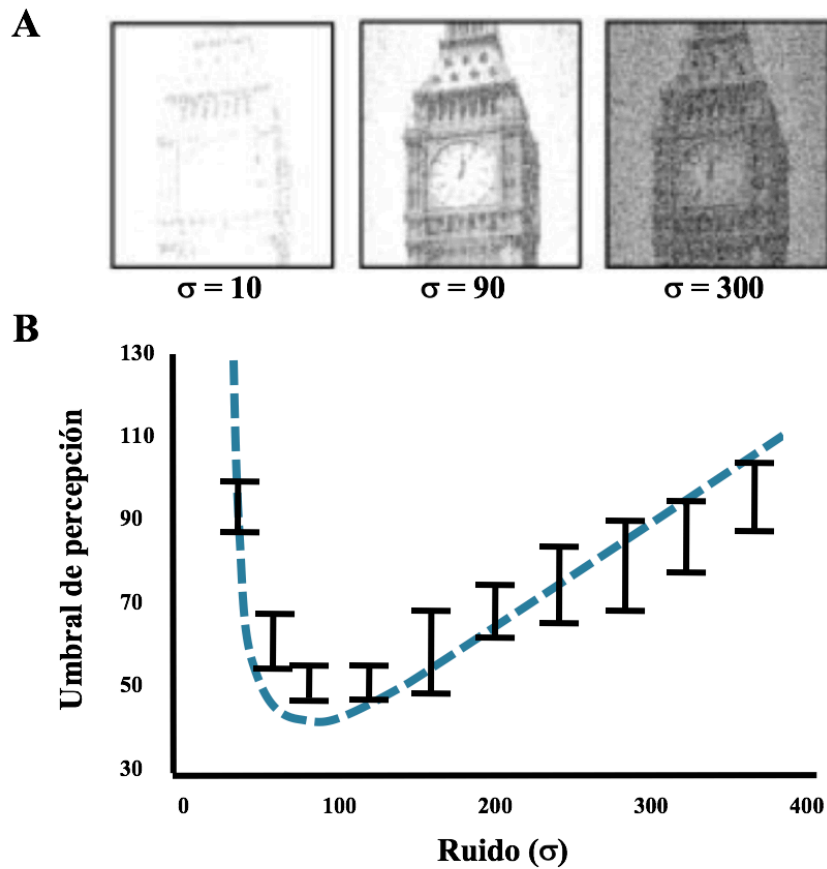
### **Resonancia estocástica en la vía visual**

Simonotto y cols., (1997) estudiaron la RE en la vía visual en humanos. Para ello, diseñaron experimentos psicofísicos que permitieron explorar la capacidad humana para interpretar la información visual a la que se le adicionó ruido.

La señal *subumbral* visual consistió de una sola imagen *-del Big Ben-*, la cual digitalizaron de 1 a 256 en la escala de grises con una resolución espacial de 256 x 256 píxeles. Cada píxel gris se llevó por debajo del umbral, de tal manera que la imagen en el monitor se apreciara blanca. Con esto, el ruido Gaussiano ( $\mu=0$ ) se sumó aleatoriamente píxel por píxel a la *imagen umbral*. Si la cantidad de ruido adicionado era bajo, o alto, resultaba imposible interpretar la imagen presentada. Sin embargo, hubo un nivel de ruido óptimo ( $\sigma=90$ , Figura 4A, panel central) que maximizó el contenido de la información visual.

En relación a los experimentos psicofísicos, a los sujetos les presentaron una serie de 100 imágenes contaminadas con diferentes intensidades de ruido aleatorio ( $\sigma=10$  a  $\sigma=400$ ) y con umbral constante ( $\Delta=30$ ). Posteriormente, les preguntaban si identificaban los detalles finos de la imagen usada. Los sujetos mostraron *umbrales de percepción máximos* cuando administraron ruido de baja y alta intensidad, y *umbrales de percepción mínimos* para un nivel óptimo de ruido (Figura 4B).

De tal manera que el umbral de percepción que se registró para cada individuo fue mínimo cuando la información provista por la imagen a la corteza visual fue máxima. Concluyendo que la característica principal de la RE aparece como un mínimo en el umbral de percepción, y que dicho fenómeno tiene una gran utilidad como una medida cuantitativa de la eficiencia con la cual el sistema visual procesa la información ruidosa.



**Figura 4| A.** Imágenes compuestas de una sola señal (imagen del Big Ben) digitalizadas de 1 a 256 en escala de grises, con una resolución espacial de 256 por 256 píxeles ( $\Delta=30$ ). Un número aleatorio de una distribución Gaussiana con media cero y desviación estándar ( $\sigma$ ) diferente de cero, se agregó a la escala de grises original, en todos los píxeles. **B.** Umbral del contraste perceptivo versus la  $\sigma$  de la intensidad de ruido (para 1 sujeto). Se presentaron diez diferentes intensidades de ruido ( $\sigma=10$  a  $\sigma=400$ ). Las barras de la gráfica son las desviaciones estándar de las diez determinaciones del *umbral de percepción* en cada nivel de ruido (Modificado de Simonotto y cols., 1997).

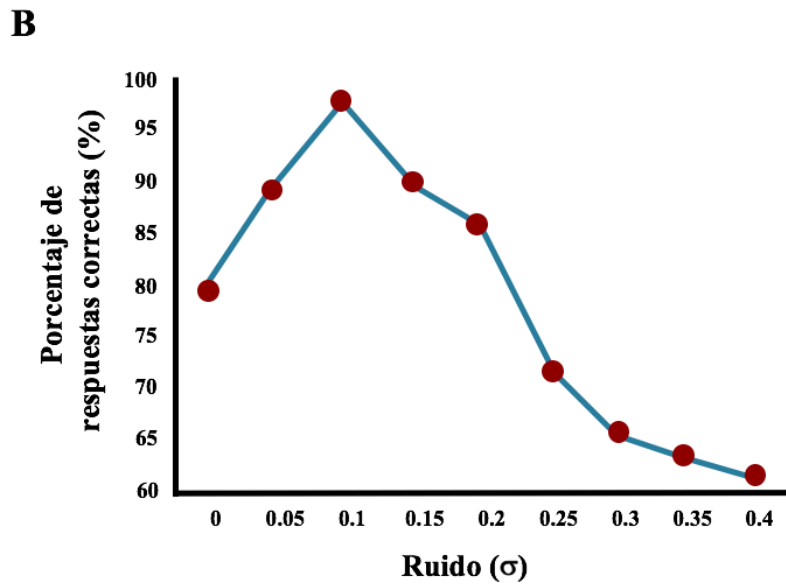
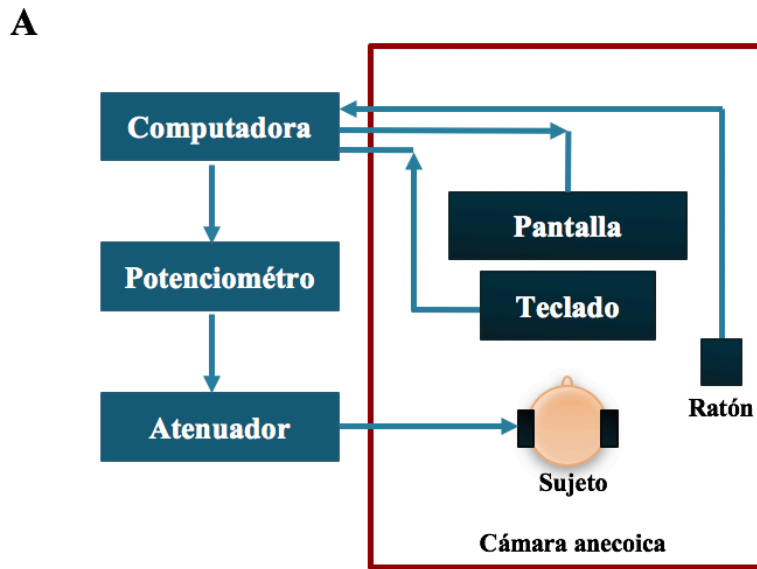
## Resonancia estocástica en la vía auditiva

En la vía auditiva hay evidencia de la ocurrencia del fenómeno de RE. Zeng y cols. (2000) exploraron el papel fisiológico de los estímulos eléctricos ruidosos al nervio auditivo y al tallo cerebral. Por lo cual, realizaron experimentos psicofísicos en nueve adultos (5 sujetos con audición normal, 3 sujetos con implante coclear y 1 sujeto con implante en tallo cerebral). Demostraron que la detección y discriminación de las señales aumentan por la adición de ruido óptimo en sujetos a los cuales la audición se produce por estimulación acústica normal, estimulación eléctrica del nervio auditivo (implantes cocleares), o estimulación eléctrica del tallo cerebral (implantes en tallo cerebral).

Por otra parte, Long y cols. (2004), realizaron experimentos psicofísicos en 11 sujetos sin problemas auditivos, donde reportaron que la capacidad de los individuos para detectar tonos puros que están cerca del umbral aumenta cuando se adiciona un nivel óptimo de ruido auditivo.

Los tonos puros (10 ms de duración y 400 Hz de frecuencia) y el ruido (cuasi-Browniano Gaussiano,  $\mu=0$  y  $\sigma=0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4$ ) se generaron y se mezclaron por una computadora para producir la señal requerida. Cuando la amplitud del tono puro estuvo por encima o por debajo del umbral de cada sujeto el ruido de entrada no afectó la detectabilidad de dicho sujeto. La capacidad de los sujetos para detectar los tonos puros disminuyó cuando la intensidad del ruido de entrada se incrementó a valores muy altos. No obstante, un nivel óptimo de ruido ( $\sigma=0.1$ ) produjo un porcentaje máximo de las respuestas correctas en la detección de tonos puros (Figura 5).

Esto demuestra que ciertos niveles de ruido pueden ser benéficos para percibir una señal débil cerca del umbral de detección. Lo anterior confirma que el ruido puede ser un factor constructivo en la percepción auditiva y éste conocimiento podría emplearse para mejorar la agudeza auditiva de individuos con elevados umbrales de audición, como las personas de la tercera edad.

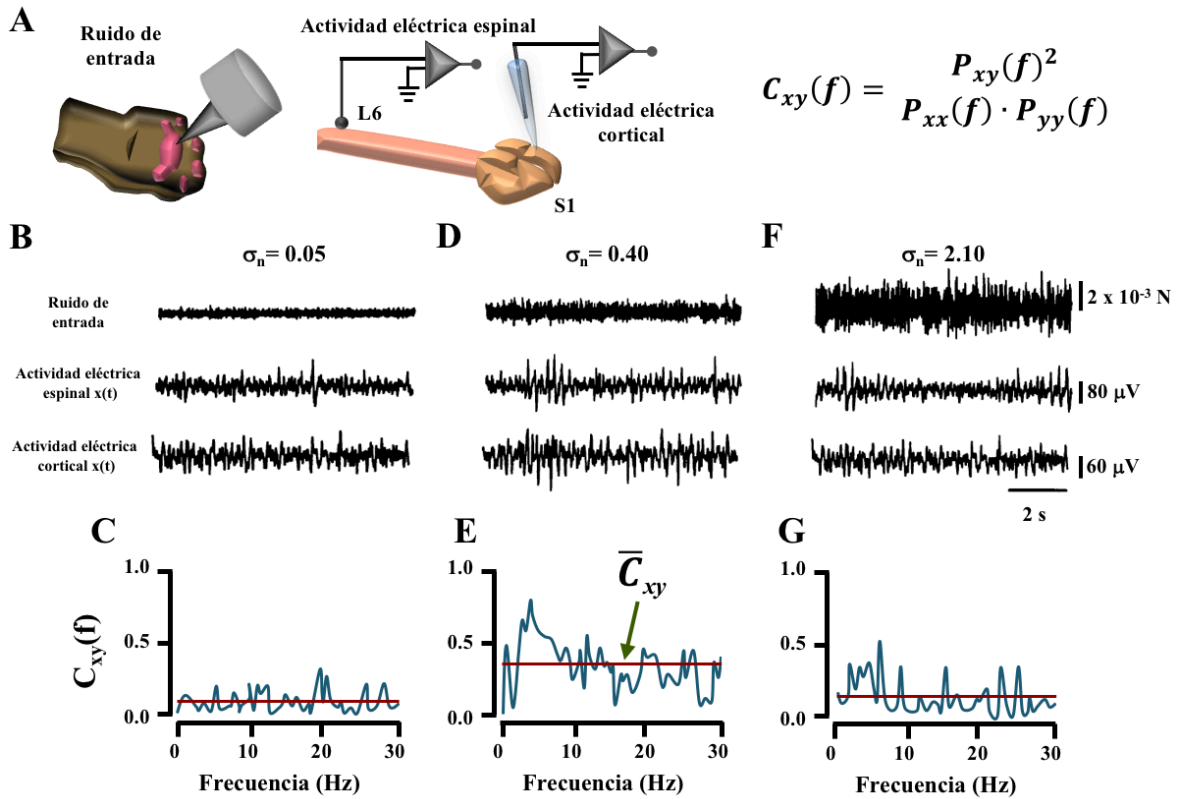


**Figura 5** | Aumento de la sensibilidad auditiva por ruido auditivo. **A.** Arreglo experimental. Los sujetos permanecieron en una cámara anecoica, la cual aisló a los sujetos de cualquier fuente sonora. **B.** Porcentaje de respuestas correctas de la detección de tonos puros versus la desviación estándar del ruido auditivo de entrada ( $\sigma=0.0 - 0.4$ ). La intensidad del tono puro fue 0.075 que corresponde al 79.4 % del porcentaje de respuestas correctas (Modificado de Long y col., 2004).

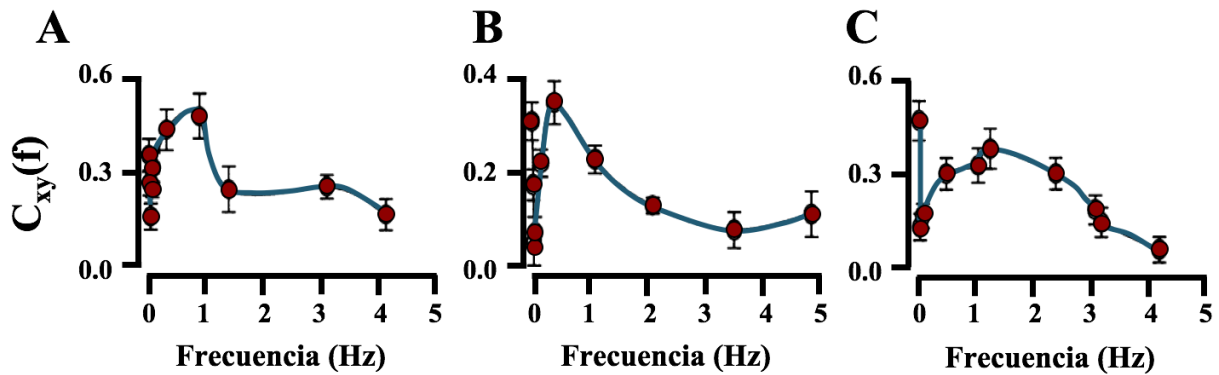
## **Resonancia estocástica en el sistema somatosensorial**

En 2002, Manjarrez y colaboradores evidenciaron experimentalmente el fenómeno de resonancia estocástica en la coherencia de la actividad eléctrica espinal y la actividad eléctrica cortical del sistema somatosensorial de seis gatos anestesiados (Figura 6). Demostraron que un estímulo mecánico ruidoso ( $0.01-5 \times 10^{-3}$  N, 10 segundos de duración) sin una señal de entrada periódica producía efectos en la coherencia espino-cortical (característica de la resonancia estocástica interna). Además, mostraron que la coherencia de la actividad eléctrica espinal y cortical presenta una forma de U invertida, con respecto a la intensidad de diez diferentes niveles de ruido mecánico aplicados aleatoriamente sobre la piel glabra de la extremidad posterior izquierda del gato.

Además, Manjarrez y cols., 2002, mostraron que la coherencia entre la actividad espinal y la actividad cortical provocada por estímulos táctiles (mecánicos) ruidosos aumentó con un nivel óptimo de ruido (6/6 sujetos). De ésta manera, sugieren que el ruido puede ser benéfico para la transmisión de la información sensorial y que impacta fuertemente en la codificación de las señales vía la coherencia del sistema espino-cortical. Esto es importante, ya que el sistema espino-cortical continuamente es impulsado por el ambiente ruidoso externo y por la actividad ruidosa interna de las neuronas del asta dorsal de la médula espinal. Además, sugieren que los cambios de la coherencia espino-cortical por medio del ruido podría asociarse con una modulación de la sincronización entre grupos neuronales espinales y corticales, lo cuales se encargan de integrar la información cutánea (Figura 7).



**Figura 6** | **A.** Esquema del arreglo experimental y la fórmula de coherencia. **B, D, F.** Muestras representativas del ruido de entrada y del registro simultáneo de la actividad espinal y cortical para tres niveles de ruido de entrada ( $\sigma_n = 0.05, 0.4$  y  $2.1$ , respectivamente). La actividad eléctrica espinal ( $x(t)$ ) se registró en la superficie del asta dorsal del segmento L6. La actividad eléctrica cortical ( $y(t)$ ) se registró en la corteza somatosensorial (S1) en el mismo animal. **C, E, G.** Gráficas de la función de coherencia ( $C_{xy}(f)$ ) entre la actividad espinal y cortical versus la frecuencia ( $f$ ), para tres diferentes niveles de ruido ilustrado en B, D y F, respectivamente. Las líneas horizontales indican la coherencia media ( $\bar{C}_{xy}$ ). Note que la gráficas de la función de coherencia exhiben diferentes perfiles y valores de coherencia media, lo que sugiere que el ruido mecánico sin una señal periódica de entrada produce efectos en el acople de grupos neuronales de la médula espinal y la corteza somatosensorial (Modificado de Manjarrez y col., 2002).



**Figura 7| A, B, C.** Coherencia media ( $\bar{C}_{xy}$ ) entre la actividad espinal y cortical versus la desviación estándar del ruido de entrada ( $\sigma_n$ ) para diez diferentes niveles de ruido aplicados a la piel glabra de la extremidad posterior izquierda. Todas las gráficas mostraron un comportamiento característico de resonancia estocástica interna. Dentro de un rango particular de ruido, la coherencia de las respuestas espinales y corticales provocadas por las indentaciones mecánicas en la piel tuvieron una forma de U invertida en función del ruido de entrada. Cada punto representa (media  $\pm$  error estándar de la media). Un promedio del pico de coherencia se calculó para todos los animales ( $0.43 \pm 0.008$ ;  $n=6$ ), (Modificado de Manjarrez y cols., 2002).

Como se describió anteriormente, el estudio de la RE a nivel neuronal permite comprender cómo el ruido impacta diversos sistemas sensoriales, ya que las neuronas proveen condiciones idóneas para mostrar dicho fenómeno, debido a que son sistemas altamente excitables y no lineales, y a menudo están sujetas a un medio ambiente ruidoso sináptico, o no sináptico (Rudolph y Destexhe, 2001).

Sin embargo, en los últimos años la mayor parte de las evidencias experimentales de la RE se enfocó a los sistemas sensoriales (Douglas y cols., 1993; Collins y cols., 1996; Greenwood y cols., 2000; Manjarrez y cols., 2002, Mori y Kai, 2002) y psicofísicos (Simonotto y cols., 1997, Zeng y cols., 2000; Long y cols., 2004; Manjarrez y cols., 2007; Lugo y cols., 2008). Estos estudios concluyen que la adición de ruido afecta la actividad eléctrica del sistema, especialmente en el sistema nervioso. No obstante, aún existen

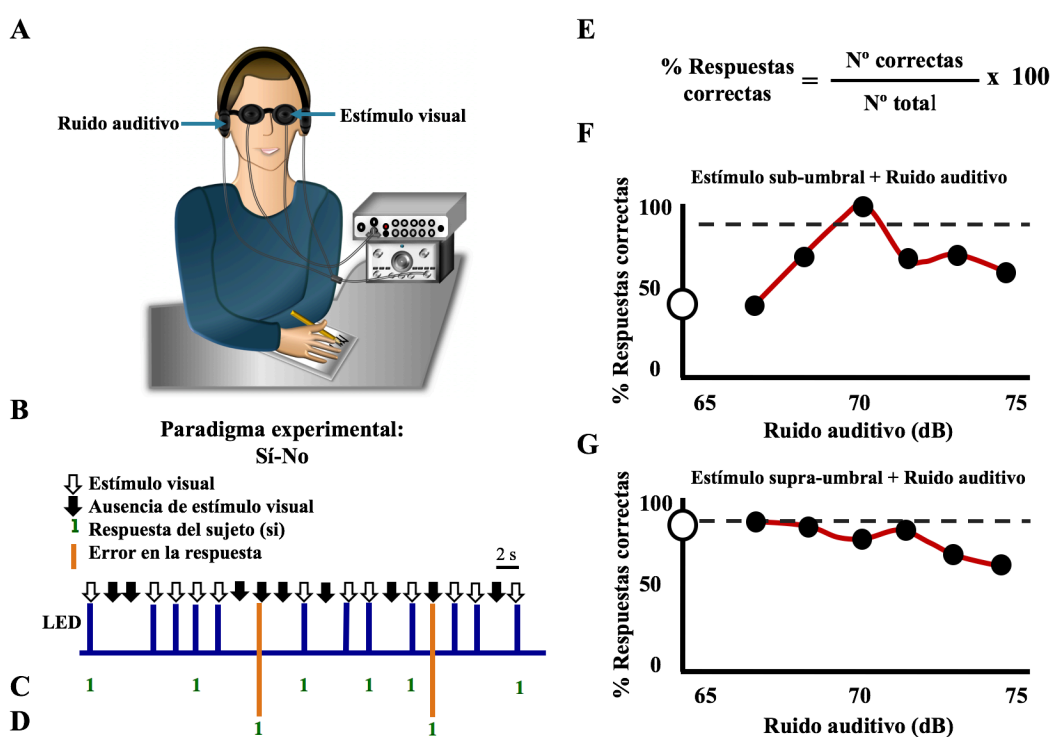
muchas preguntas en relación al papel fisiológico del ruido en los procesos multisensoriales.

## **Resonancia estocástica multisensorial**

En 1979, Harper demostró que la sensibilidad a la detección de parpadeo visual exhibe una forma de U invertida en función de la intensidad de diferentes niveles de ruido auditivo de 40 a 110 decibeles (dB). Sin embargo, en el estudio de Harper no se hace referencia del fenómeno de resonancia estocástica, ya que dicho fenómeno fue reportado por Benzi y cols., tres años después, hasta 1981. Por otra parte, Manjarrez y cols., (2007) extendieron las observaciones de Harper (1979) en función de la resonancia estocástica multisensorial. Realizaron experimentos psicofísicos en humanos, bajo el paradigma experimental: *Sí-No*. Para lo cual, adicionaron estímulos visuales, los cuales consistieron en *destellos luminosos* provistos por una serie de LEDs (intensidad del estímulo sub-umbral:  $68 \times 10^{-8}$  cd/m<sup>2</sup>, estímulo supra-umbral:  $546 \times 10^{-8}$  cd/m<sup>2</sup>, 50 ms de duración). De manera conjunta al estímulo visual aplicaron binauralmente ruido blanco (65-75 dB). Con lo anterior los sujetos tenían que indicar cuando detectaban el estímulo visual, demostrando que la detección de señales visuales débiles, emitidas por un LED, presentan una forma de U invertida que están en función de la intensidad de diferentes niveles de ruido auditivo. Sin embargo, para una señal visual alta, el ruido auditivo actúa en detrimento de la habilidad de la detección visual. Ellos asumieron que estas respuestas, presumiblemente, se generan en las neuronas multisensoriales de los colículos superiores que participan en la integración multisensorial visual-auditiva de señales periódicas y señales ruidosas (Figura 8).

En 2008, Lugo y cols., basándose en los experimentos realizados por Manjarrez y cols., (2007) realizaron experimentos en humanos con técnicas psicofísicas para otras modalidades sensoriales, donde demostraron que el ruido auditivo puede aumentar la sensibilidad táctil, visual y propioceptiva debida a señales débiles. Específicamente, ellos evidenciaron que la eficacia del ruido auditivo incrementa significativamente las sensaciones táctiles del dedo, disminuye los umbrales visuales y produce cambios en los electromiogramas (EMG) registrados en los músculos de la pierna durante el

mantenimiento de la postura. Lugo y cols., 2008, sugieren que la RE multisensorial es un fenómeno que puede ser interpretado dentro de un modelo que estudia cambios en la frecuencia y energía de neuronas multisensoriales con actividad espontánea. Inicialmente, la energía y frecuencia contenida en la actividad de las neuronas multisensoriales (suministrado por señales débiles) no es suficiente para ser detectada; pero cuando el ruido auditivo es procesado en el cerebro, esto genera una activación general de las neuronas multisensoriales de diferentes regiones, modificando su actividad original. El resultado es una activación integrada que promueve que las señales sean percibidas; y con ello, la integración de múltiples estímulos sensoriales.



**Figura 8** | **A.** Arreglo experimental. **B, C, D.** Prueba psicofísica. **B.** Ejemplo de una secuencia de 12 destellos luminosos (indicados por las barras verticales). Las flechas ilustran la presentación aleatorizada del “estímulo visual” o “ausencia del estímulo visual”. **C.** Las respuestas correctas de un sujeto es indicada por el número 1 cuando un destello luminoso fue presentado (flecha blanca). **D.** Las respuestas incorrectas se indican por las líneas punteadas verticales y el número 1. Note que en este caso la respuesta “sí” en ausencia (flecha negra) de los destellos luminosos. **E.** Fórmula para obtener el porcentaje de respuestas correctas para cada intensidad de ruido auditivo. **F.** Gráfica del porcentaje de

respuestas correctas de los estímulos visuales, versus el ruido de entrada auditivo. La significancia estadística de los resultados se determinó por medio del nivel de confianza del 95%, indicado por la línea horizontal. Los círculos blancos indican el control (Modificado de Manjarrez y cols., 2007).

---

---

## **CAPÍTULO 1**

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

---

---

Con el propósito de interactuar con el mundo multisensorial que nos rodea, debemos integrar varias fuentes de información sensorial (visión, audición, tacto...). Una pregunta fundamental es: ¿cómo el sistema nervioso integra los distintos elementos de un objeto definido por varios componentes sensoriales para llegar a una unificación perceptual?

Diversas regiones de la corteza cerebral y del mesencéfalo son el principal modelo para el estudio de la integración multisensorial. Lo cual está respaldado por la convergencia de información visual, auditiva, somatosensorial, vestibular y propioceptiva (Meredith y Stein, 1986). Sin embargo, a nivel cortical, la integración multisensorial apareció para ser una característica atribuida a regiones, como, el área somatosensorial, la corteza visual, los colículos superiores, entre otros.

Con esto en mente, diversos grupos de investigación se dieron a la tarea de estudiar la integración de diversas modalidades sensoriales en términos de la resonancia estocástica. Manjarrez y cols., (2007) evidenciaron psicofísicamente en humanos, que la adición de un nivel particular de ruido auditivo mejora la detección de señales visuales débiles (lo cual constituye la primera descripción del fenómeno de resonancia estocástica multisensorial). Además, en los colículos superiores, también se estudiaron los efectos del ruido auditivo

sobre los potenciales provocados visuales. En los que se observó un aumento en la amplitud de éstos al adicionar un nivel óptimo de ruido, debido a que éste aumenta la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales que responden a estímulos visuales (Huidobro, 2013, Tesis de maestría).

Sin embargo, aún siguen sin conocerse los mecanismos que expliquen cómo el ruido es capaz tener un efecto en diversos sistemas sensoriales. No obstante, en la actualidad se cuenta con diversas herramientas que nos permiten obtener información del SNC en alta resolución, ejemplo de éstas, son las técnicas electrofisiológicas que emplean sistemas de microelectrodos de alta impedancia, de imagenología (LORETA), de manipulación genética como la optogenética, las cuales podrían darnos información importante de la operación del SNC en ambientes ruidosos.

Por ello, el propósito del presente estudio es caracterizar el efecto del ruido neuronal y multisensorial en la actividad eléctrica de la corteza somatosensorial de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP, de los colículos superiores de gatos y de la corteza cerebral visual de humanos.

---

---

## **CAPÍTULO 1**

### **HIPÓTESIS**

---

---

En la corteza cerebral y en los colículos superiores existen grupos de neuronas que exhiben resonancia estocástica sensorial y multisensorial de manera diferencial. Dicha resonancia estocástica puede ocurrir independientemente del tipo de entrada sensorial, ya que la fotoestimulación optogenética ruidosa sobre neuronas de la corteza cerebral también la produce.

---

---

# **CAPÍTULO 1**

## **OBJETIVOS**

---

---

### **GENERALES**

- I. Examinar el efecto del ruido optogenético sobre la actividad eléctrica neuronal de la corteza somatosensorial.
- II. Evaluar el efecto del ruido auditivo y táctil en los potenciales provocados visuales de los colículos superiores y corteza cerebral registrados simultáneamente
- III. Evaluar la influencia del ruido combinado auditivo-táctil en los potenciales provocados visuales en humanos.

### **PARTICULARES**

- I. Obtener registros de los potenciales provocados somatosensoriales (PPSs) de la corteza de barriles de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP y ratones silvestres C57.
- II. Obtener registros de los potenciales extracelulares multiunitarios (PEMs) de la corteza de barriles de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP y ratones silvestres C57.
- III. Realizar curvas de la RSR versus el ruido de entrada para los PPSs y los PEMs registrados en la corteza de los barriles de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP y ratones silvestres C57.

- IV. Implementar un modelo matemático que reproduzca los resultados experimentales de los ratones Thy1-ChR2-YFP.
- V. Realizar el análisis histológico a través del método CLARITY de la corteza somatosensorial de los ratones Thy1-ChR2-YFP y de los ratones C57.
- VI. Obtener registros de potenciales extracelulares unitarios o multiunitarios de neuronas multisensoriales de los colículos superiores y calcular las curvas del *número de eventos / muestras* versus *ruido de entrada*, con señal visual y ruido auditivo.
- VII. Obtener registros de potenciales extracelulares unitarios o multiunitarios de neuronas multisensoriales de los colículos superiores y calcular las curvas del *número de eventos / muestras* versus *ruido de entrada*, con señal visual y ruido táctil.
- VIII. Obtener registros de potenciales extracelulares unitarios o multiunitarios de neuronas multisensoriales de los colículos superiores y calcular las curvas del *número de eventos / muestras* versus *ruido de entrada*, con señal visual y ruido combinado auditivo-táctil.
- IX. Cuantificar las neuronas multisensoriales de los colículos superiores de acuerdo a su sitio de registro: *estratos superficiales*, *estratos intermedios* y *estratos profundos*.
- X. Cuantificar el porcentaje de cambio de las respuestas visuales de las neuronas multisensoriales cuando se aplicó ruido auditivo, ruido táctil y ruido combinado auditivo-táctil y compararlo con respecto a las respuestas producidas exclusivamente por la estimulación periódica visual.
- XI. Realizar el análisis histológico a través de la tinción Golgi-Cox de los colículos superiores.
- XII. Obtener registros de la onda P100 electroencefalográfica en el humano durante la aplicación de estímulos visuales y ruido auditivo.
- XIII. Obtener registros de la onda P100 electroencefalográfica en el humano durante la aplicación de estímulos visuales y ruido táctil.
- XIV. Obtener registros de la onda P100 electroencefalográfica en el humano durante la aplicación de estímulos visuales y ruido combinado auditivo-táctil.

- XV. Calcular los cambios en la amplitud de la onda P100 cuando se aplica ruido auditivo, ruido táctil y ruido combinado auditivo-táctil.
- XVI. Cuantificar el porcentaje de cambio en la amplitud de la onda P100 cuando se aplicó ruido auditivo, ruido táctil y ruido combinado auditivo-táctil.
- XVII. Realizar el análisis de imagenología LORETA de las señales electroencefalográficas para los diferentes tipos de ruido aplicado.

---

---

## **CAPÍTULO 2**

### **EFFECTO DEL RUIDO OPTOGENÉTICO SOBRE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA CORTICAL DE RATONES TRANSGÉNICOS THY1-CHR2-YFP Y RATONES SILVESTRES C57**

---

---

## **INTRODUCCIÓN**

Como se describió previamente, la resonancia estocástica es un fenómeno que ocurre en los sistemas no lineales y hace referencia a un aumento de la RSR mediada por ruido. Clásicamente, la RSR sigue una forma de U-invertida en función del nivel de ruido de entrada; es decir, existe un nivel intermedio de ruido para el cual la RSR exhibe un nivel máximo (Benzi y cols., 1981; Douglass y cols., 1993; Collis y cols., 1996; McDonnel y Abbott, 2009).

En la literatura, hay muchos estudios psicofísicos y electrofisiológicos en humanos y animales que apoyan la idea de que el cerebro exhibe dicho fenómeno (Simonotto y cols., 1997; Zeng y cols., 2000; Manjarrez y cols., 2002, 2003; Mori y Kai, 2002, Long y cols., 2004). Otros estudios relacionados a la RE en el cerebro humano emplearon estímulos

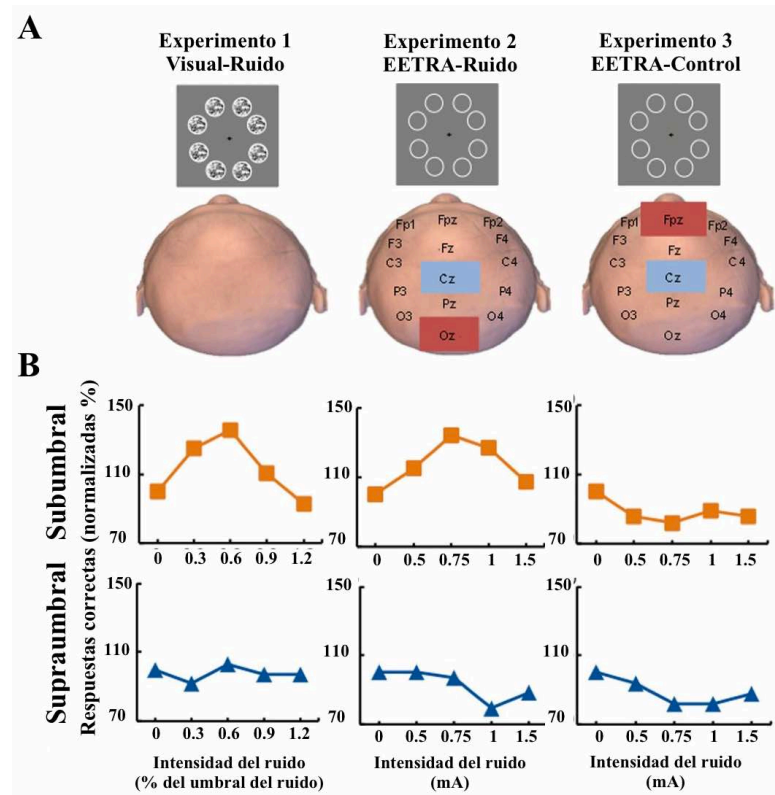
sensoriales ruidosos para explorar el mejoramiento de la integración visual de manera unisensorial o multisensorial (Manjarrez y cols., 2007; Lugo y cols., 2008; Mendez-Balbuena y cols., 2015; Treviño y cols., 2016).

En múltiples estudios relacionados a la RE en humanos, el cerebro se ha considerado como una *caja negra*, en relación a las respuestas conductuales debidas a las entradas sensoriales ruidosas externas. No obstante, estudios recientes pretenden abrir dicha *caja negra*, a través de la aplicación de ruido eléctrico en el cerebro para aumentar la sensación táctil en primates (Medina y cols., 2012), o de estimulación eléctrica transcraneal ruidosa aleatoria (EETRA, [tRNS, por sus siglas en inglés]) aplicada directamente al cuero cabelludo en humanos.

La idea detrás de dichos estudios pioneros es controlar la actividad eléctrica ruidosa de las neuronas de la corteza cerebral a través de la estimulación sensorial ruidosa. Dichos procedimientos podrían controlar la percepción sensorial y procesos de cognición con este tipo de estimulación eléctrica. Ejemplo de lo anterior es que, la EETRA aumenta la excitabilidad cerebral humana, la cognición numérica y la percepción de la identificación facial (Terney y cols., 2008; Cappelletti y cols., 2013; Snowball y cols., 2013; Romanska y cols., 2015).

Recientemente, Van der Groen y Wenderoth (2016) demostraron en humanos que la EETRA en la corteza visual aumenta la precisión de los estímulos visuales subumbrales (señales débiles). Debido a que la precisión de la detección siguió una forma de U-invertida, estos autores describieron sus resultados en términos de la RE (Figura 9).

Estos estudios sugieren que la EETRA produce RE a través de la perturbación ruidosa al potencial de membrana neuronal en la corteza cerebral. Sin embargo, es posible que dicho tipo de perturbación ruidosa aplicada al cuero cabelludo podría producir la activación de receptores sensoriales. Pero, ¿qué efectos tiene la estimulación eléctrica en preparaciones animales?, ¿ocurrirá el fenómeno de resonancia estocástica?



**Figura 9| Efecto de la EETRA en la precisión de los estímulos visuales. A.** Representación de tres experimentos. En los experimentos EETRA-Ruido y EETRA-Control, no se presentó ruido en la pantalla **B.** Datos representativos de sujetos individuales. Los participantes en el experimento Visual-Ruido y EETRA-ruido se observa un pico en el porcentaje de respuestas correctas cuando el ruido se aplicó al estímulo subumbral (gráficas del panel superior, línea naranja), pero no para las respuestas producidas por el estímulo supraumbral (gráficas del panel inferior, línea azul). (Modificado de Van der Groen y Wenderoth, 2016).

En preparaciones *in vitro*, Gluckman y colaboradores (1996), describieron un método pionero para estimular eléctricamente rebanadas de cerebro de rata con ruido y señales periódicas. Ellos demostraron que los las señales y el ruido aplicados directamente a las neuronas hipocampales producen resonancia estocástica. Además, Stacey y Durand (2000) demostraron que la actividad multiunitaria de neuronas CA1 podrían exhibir RE a

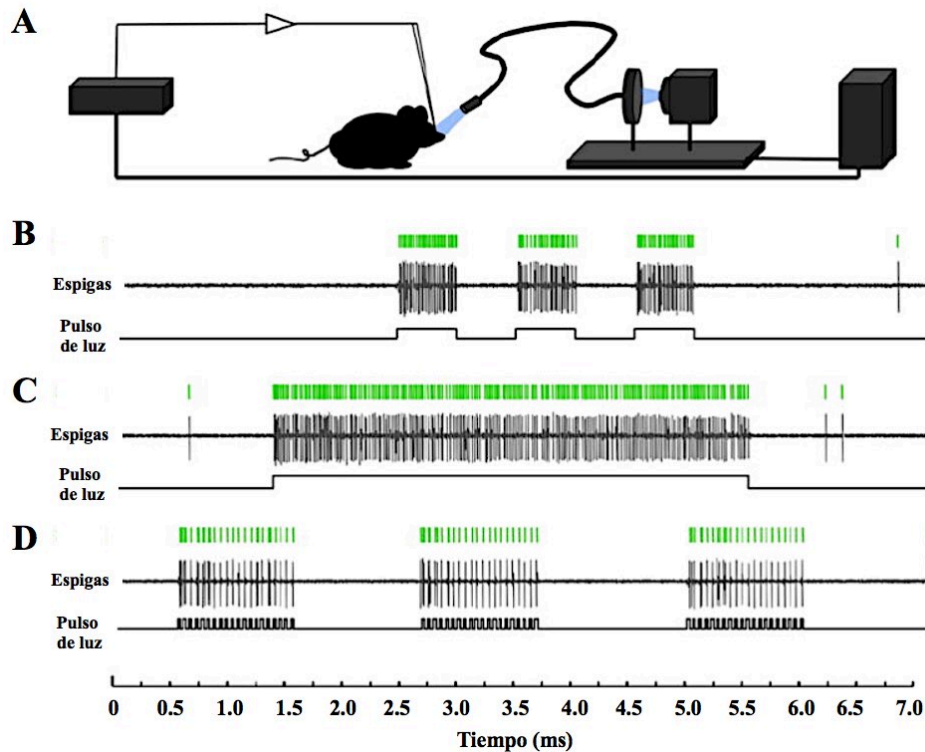
través de las entradas sinápticas en el hipocampo. Asimismo, Pei y colaboradores (1996) realizaron experimentos en neuronas mecanorreceptoras sensibles a luz del sexto ganglio abdominal del cangrejo de río. Ellos evidenciaron que la luz en un rango visible aumenta la RSR a señales periódicas hidrodinámicas. Interpretando sus resultados como un efecto de la RE que produce un aumento de RSR.

Dichos estudios demuestran la capacidad de las neuronas para integrar señales y ruido eléctrico. Por ello, el siguiente paso, para explorar con mayor detalle el impacto del ruido al SNC en las respuestas sensoriales es emplear una nueva técnica para controlar el potencial de membrana en la corteza cerebral. Como en los estudios de Medina y cols. (2012), quienes emplearon la estimulación intracortical; es conveniente que dicha técnica pudiera emplearse para examinar el impacto del ruido neuronal sobre la amplitud de las respuestas sensoriales producidas electrofisiológicamente y registradas en la misma región de la estimulación ruidosa.

La estrategia para examinar el impacto del ruido externo en la integración de múltiples señales sensoriales y sobre el ruido interno intrínseco al SNC, es la fotoestimulación ruidosa optogenética (FRO), una técnica desarrollada en nuestro laboratorio. La cual consiste en la aplicación de luz *ruidosa* en vez de pulsos de luz como en los estudios clásicos de optogenética (Boyden y cols., 2005). La principal ventaja de esta clase de estimulación es que está libre de artefactos eléctricos y es altamente selectiva. La fotoestimulación optogenética activa solo las neuronas que expresan la opsina canalrodopsina (ChR2) en las capas corticales IV-V en ratones transgénicos que expresan esta proteína. Dicha selectividad fue demostrada por Wang y cols. (2007), en el mismo tipo de ratones transgénicos que empleamos en nuestros experimentos.

Además, Arenkiel y cols. (2007), encontraron que el ratón transgénico Thy1-ChR2-YFP expresaba altos niveles de ChR2-YFP (Proteína canalrodopsina-2 bajo el promotor Thy1, el cual está fusionado a la proteína amarilla fluorescente) en las neuronas piramidales de la capa V con proyección de sus dendritas apicales a la capa IV. La Figura 10 muestra

las diversas respuestas de las neuronas piramidales que expresan ChR2 del bulbo olfatorio ante la estimulación optogenética (Arenkiel y cols. 2007).



**Figura 10| Fotoestimulación *in vivo* de las neuronas corticales de la capa 5 que expresan ChR2 en el bulbo olfatorio.** **A.** Esquema del sistema de registro electrofisiológico. **B.** Actividad unitaria a tres pulsos de luz de 500 ms con intervalos de 500 ms. **C.** Actividad unitaria a un pulso de luz de 4 s. **D.** Actividad unitaria a tres pulsos de luz de 20 Hz. Note la alta correspondencia temporal entre los pulsos de luz y las espigas registradas (Modificado de Arenkiel y cols., 2007).

Así que, la aplicación de la FRO proporciona la oportunidad de explorar los efectos de diferentes niveles de ruido neuronal en la RSR de los potenciales provocados somatosensoriales (PPSs) registrados en la corteza de los barriles. De esta manera, nuestro estudio podría contribuir a la explicación del mejoramiento en la detección multisensorial por la aplicación de la microestimulación intracortical y de la EETRA en el cuero, en primates y humanos, respectivamente.

---

---

## CAPÍTULO 2

### MATERIAL Y MÉTODOS

---

---

#### Procedimientos generales

Realizamos experimentos en 10 ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP (línea 18) ( $35 \pm 3$  gramos), los cuales expresan la proteína canalrodopsina-2 bajo el promotor Thy1, el cual está fusionado a la proteína amarilla fluorescente (ChR2-YFP), a los cuales registramos los potenciales provocados somatosensoriales (PPSs) producidos por la estimulación mecánica de las vibrisas y durante la adición de ruido optogenético a través de la fotoestimulación ruidosa optogenética (FRO). Además, empleamos 6 ratones controles de la cepa C57 (*Wild-type*, *WT*; por sus siglas en inglés) ( $31 \pm 3$  gramos). Los ratones se obtuvieron del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV-IPN). Los animales se mantuvieron en cuartos con luz y temperatura controlada (luz encendida a las 6 a.m. y luz apagada a las 6 p.m.) y con libre acceso a comida y agua. Además, se realizó la genotipificación a todos los animales a través de la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (*PCR*, por sus siglas en inglés).

Todos los procedimientos experimentales se apegaron a los lineamientos del Comité Directivo de la Comunidad Europea del 24 de noviembre de 1986 (86/609/EEC), de la Guía de los Institutos Nacionales de Salud para el cuidado y uso de animales de laboratorio (85-

23, revisada en 1985) y por la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). Asimismo, todos los protocolos fueron aceptados por el comité de ética de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (CICUAL-Proyecto-00489).

Los animales se anestesiaron intraperitonealmente con una mezcla de ketamina (90 mg/kg), xilacina (10 mg/kg) y acepromacina (2 mg/kg). Para mantener un adecuado nivel de anestesia, administramos dosis de la mezcla ketamina/xilacina/acepromacina cada 60-90 min. Una vez anestesiados, los ratones se colocaron en un aparato esterotáxico. En seguida, expusimos la superficie del cráneo del lado derecho y realizamos un trepano de 7 mm de diámetro para descubrir la corteza somatosensorial de barriles (contralateral al sitio de la estimulación de las vibrisas). Posteriormente, retiramos la duramadre (~5-7 mm<sup>2</sup>) y construimos con acrílico dental una pequeña cámara alrededor de la apertura del hueso del cráneo. Luego, mantuvimos lleno dicho espacio con aceite mineral. Además, empleamos una lámpara de luz roja y una almohadilla caliente para mantener la temperatura de los animales alrededor de 37°C. Al término del experimento, se realizó la eutanasia de los gatos con sobredosis de pentobarbital sódico.

## **Estimulación mecánica**

### *Para el registro de los potenciales provocados somatosensoriales*

La estimulación mecánica de todo el grupo de vibrisas del lado izquierdo de cada animal permitió el registro de los potenciales provocados somatosensoriales en la corteza de barriles contralateral. La estimulación consistió de la protracción de las vibrisas con un pulso de duración de 5 ms a 1 Hz de frecuencia, de 0 a 4 mN, los cuales aplicamos mediante un estimulador-transductor mecánico tipo Chubbuck. Cabe señalar que, el estímulo de protracción se ajustó para producir un PPS en la corteza de barriles (derecha) del 30% con respecto al máximo PPS (100%) que registramos. La Figura 11A ilustra el arreglo experimental y cómo el conjunto de vibrisas se estimularon *en masa* para producir una gran actividad eléctrica (por ejemplo, PPSs) en todos los barriles corticales. Obtuvimos registros de los PPSs con electrodos de plata clorurada de 200 µm de diámetro, colocados

en la corteza de barriles y sobre los músculos de la cabeza. Registramos los PPSs en la región de la corteza de barriles donde el promedio de los PPSs exhibió su máxima amplitud. Dichos PPSs se obtuvieron con amplificadores Astromed- Grass p511 con un filtro pasabandas de 0.05-30 Hz. Posteriormente, se digitalizaron con el sistema Digidata 1440A (Molecular Devices, Axon Instruments) con una frecuencia de muestreo de 50 kHz.

#### *Para el registro de la actividad multiunitaria*

Estimulamos mecánicamente las vibrisas contralaterales al sitio del registro de la actividad eléctrica neuronal, con un pulso de 5ms de duración el cual se presentó cada 0.5 s (2 Hz de frecuencia). El estímulo de protracción se ajustó para producir potenciales extracelulares multiunitarios (PEMs) de las neuronas de la corteza de los barriles del 30% con respecto al máximo PEM (100%) registrado. La respuesta producida por la estimulación de las vibrisas fue una ráfaga de actividad multiunitaria en la corteza de los barriles (Figura 12).

Registramos la actividad multiunitaria de neuronas de la corteza de los barriles con un sistema de microelectrodos de 5 canales (MiniMatrix, Versión SUA-filter, Thomas Recording, GmbH, Giessen, Germany) referenciado a un electrodo colocado en los músculos de la cabeza. Empleamos electrodos de cuazo/platino-tungsteno de 5-7 M $\Omega$  de impedancia (fabricados con materiales de Thomas Recording, GmbH, Giessen, Germany). Las señales se amplificaron (ganancia de 100 o 1000) y se filtraron en línea (0.5 – 5 kHz) con el mismo sistema MiniMatrix. Posteriormente, digitalizamos los PEMs con el Sistema Digidata 1440A (Molecular Devices, Axon Instruments) con una frecuencia de muestreo de 250 kHz. Para evitar la pérdida de información, las señales no se filtraron fuera de línea. Cada una de las respuestas multiunitarias de las neuronas de la corteza somatosensorial exhibieron una forma de ráfaga al adicionar estímulos mecánicos de protracción de las vibrisas (Figura 12B) y durante la fotoestimulación ruidosa optogenética (Figura 12B).

### **Fotoestimulación ruidosa optogenética**

La región cortical donde ocurrieron los PPSs de mayor amplitud, se iluminó continuamente con luz azul ruidosa de 470 nm (Fotoestimulación ruidosa optogenética), la cual, se aplicó con una fibra óptica de 200  $\mu\text{m}$ , con una apertura numérica de 0.39 del sistema ThorLabs. Las variaciones de la intensidad de la luz azul se controlaron a través de un generador de ruido WaveTek 132. Por otra parte, usamos un medidor de potencia óptica PM100D con salida analógica y sensor tipo S150C de ThorLabs para caracterizar el espectro de potencia de la fotoestimulación ruidosa optogenética aplicada a la corteza cerebral. El espectro de potencia de la FRO fue similar al espectro de potencia del ruido Browniano en el rango de 0 a 5000 Hz (Figura 11A, MUA:Figura 12C,E). Empleamos este tipo de FRO en el rango de 0 a 0.67 mW de potencia óptica. El diámetro de la región iluminada de la corteza de los barriles fue de 1 mm aproximadamente, cuando la iluminación alcanzó su máximo nivel de intensidad. Posteriormente, empleamos la cámara Jenoptik Progress Gryphaz Subra para verificar que la luz sólo iluminara el área de los barriles. La propagación de la luz a través del tejido cerebral se atenúo de 1 mm<sup>2</sup> para subir a 2 mm<sup>2</sup>, cuando la luz alcanzó máxima potencia óptica (0.67 mW), iluminando sólo el área de la corteza de barriles (imagen del panel inferior derecho de la Figura 11A). La Figura 11A ilustra que el área cerebral que exhibe la máxima intensidad de luz ruidosa fue de 1 mm<sup>2</sup>, dentro de la región de los barriles.

## **Protocolo de estimulación**

### *Para el registro de los potenciales provocados somatosensoriales*

El protocolo de estimulación consistió de 32 muestras de protracción de las vibrisas durante el ruido cero de FRO (condición control, ver el PPS promediado en la Figura 11B) y cinco niveles de FRO (0.1, 0.15, 0.3, 0.56 y 0.67 mW) sobre la corteza de barriles (Figura 11C, muestra un ejemplo de un registro continuo de un nivel típico de FRO). Aplicamos de manera continua cada nivel del FRO durante la estimulación mecánica de las vibrisas. Además, adicionamos de manera aleatoria los seis niveles de la fotoestimulación optogenética ruidosa, incluyendo intervalos de 20 s entre cada nivel de ruido, para evitar efectos de adaptación.

### *Para el registro de la actividad multiunitaria*

Desarrollamos tres protocolos de estimulación: 1) estimulación de las vibrisas solamente; 2) Estimulación mecánica de las vibrisas durante la FRO; 3) fotoestimulación ruidosa optogenética de la corteza cerebral. El protocolo 1 consistió de 32 muestras de estimulación periódica de las vibrisas durante la condición control (FRO cero). El protocolo 2 consistió de 32 muestras de estimulación periódica de las vibrisas durante la aplicación de cinco intensidades de FRO continua. Cabe señalar que la presentación de los diferentes niveles de ruido fue de manera aleatoria. El protocolo 3 consistió en la aplicación de FRO solamente.

### **Análisis de datos**

#### *Para el registro de los potenciales provocados somatosensoriales*

Obtuvimos potenciales provocados somatosensoriales producidos por diferentes intensidades de estimulación mecánica de las vibrisas (Figura 11A, B) para realizar curvas entrada-salida con el objetivo de determinar la intensidad de estimulación mecánica (protracción de las vibrisas) que nos produjera PPSs del 30 % con respecto a la máxima amplitud de dichos potenciales (100%). La gráfica del panel superior izquierdo de la Figura 11A muestra una curva entrada-salida para la máxima amplitud de los PPSs versus la intensidad del estímulo de prueba. La línea vertical magenta indica la intensidad del estímulo que empleamos en los protocolos (1.2 mN, aproximadamente). En los 6 ratones transgénicos y los 5 ratones *WT*, usamos el nivel de estimulación mecánica de las vibrisas que produjo PPSs con una amplitud del 30 % con respecto a la máxima amplitud registrada (100 %). En otros 4 ratones transgénicos, empleamos el nivel de estimulación mecánica (4 mN, aproximadamente) que produjo PPSs con una amplitud del 100% con respecto a la máxima amplitud registrada (100%).

Posteriormente, obtuvimos 15 potenciales provocados somatosensoriales en la condición control y por cada nivel de fotoestimulación ruidosa optogenética, con los cuales

determinamos la RSR. Calculamos la RSR a través del cociente de los PPSs (rectificados) registrados durante la aplicación de la fotoestimulación ruidosa optogenética (S+R) y los PEC (rectificados) registrados durante la adición de ruido solamente (R). Empleamos la fórmula:

$$RSR = |S + R|/|R|$$

para calcular la RSR de salida para cada nivel de FRO que aplicamos. Posteriormente, calculamos el área de la RSR de salida para todos los niveles de FRO, incluyendo el nivel de ruido cero. Con lo anterior, obtuvimos gráficas del área de la RSR de salida versus la fotoestimulación ruidosa optogenética (FRO).

#### *Para el registro de la actividad multiunitaria*

Obtuvimos potenciales extracelulares multiunitarios, los cuales, rectificamos durante la adición de los diferentes niveles de la FRO. Es preciso señalar que la rectificación de los PEMs proporciona una precisión temporal del aumento o decremento del disparo neuronal de manera global. Este tipo de mediciones son muy frecuentes en el análisis del disparo neuronal en la corteza somatosensorial (Castro-Alamancos y Bezdudmaya, 2015), y no sólo es exclusiva para el análisis de señales electromiográficas. Es decir, que la actividad multiunitaria rectificada de la corteza de los barriles representa principalmente la composición de la actividad eléctrica de múltiples neuronas alrededor del electrodo de registro. Empleamos las señales extracelulares multiunitarias rectificadas, porque se correlacionan bien con el potencial de membrana de los registros intracelulares en la corteza de los barriles, además, de que es una excelente herramienta de medición de la actividad eléctrica a nivel global (Castro-Alamancos y Bezdudmaya, 2015).

Posteriormente, calculamos la RSR, para lo cual, primero calculamos los valores absolutos de los PEMs rectificados que obtuvimos durante la aplicación de estímulos mecánicos y diferentes niveles de FRO ( |PEM de vibrisas + FRO|, Figura 13B). Segundo, calculamos los valores absolutos de los PEMs rectificados que obtuvimos para los diferentes niveles de FRO solamente ( |PEM producido por FRO pero sin protracción de las vibrisas|, Figura 13C). Tercero, calculamos la  $RSR_{(Salida)}$  a través de la siguiente fórmula:

$$RSR_{(Salida)} = \frac{|PEM \text{ de vibrisas} + FRO|}{|PEM \text{ producido por FRO pero sin protracción de las vibrisas}|}$$

Después, calculamos la RSR para cada nivel de FRO. La Figura 13 muestra el procedimiento para calcular la RSR para un animal. Con fines ilustrativos, en la Figura 13 se observan tres niveles de FRO (cero, intermedio y alto, FRO-C, FRO-I Y FRO-A, respectivamente) aplicada durante la estimulación mecánica de las vibrisas. El panel superior de la Figura 13B representa los pulsos de estimulación mecánica de las vibrisas durante tres niveles de ruido. El panel de la Figura 13B etiquetado como *PEM de vibrisas + ONP* muestra los PEMs de la corteza somatosensorial producidos por la adición de estímulos mecánicos de la vibrisas y tres niveles de FRO. El panel etiquetado como  $|PEM \text{ de vibrisas} + FRO|$  ilustra la actividad multiunitaria rectificadora e integrada. Note que el nivel intermedio de FRO incrementó no solo las ráfagas de actividad eléctrica asociadas a la estimulación de las vibrisas, sino también la actividad eléctrica de fondo. Para calcular la RSR, registramos PEMs en la corteza de los barriles durante la aplicación de FRO solamente (Figura 13C). Finalmente, para examinar estadísticamente los cambios en la RSR a través de los diferentes niveles de la FRO, decidimos calcular el *área bajo la curva de la RSR (área de RSR<sub>(Salida)</sub>)*. Para este sujeto, obtuvimos tres áreas de RSR para tres diferentes niveles de FRO (FRO-C: 605.9 s, FRO-I: 736.6 s y FRO-A: 671.7 s). De esta manera, construimos gráficas del *área de la RSR* versus *FRO*.

## **Análisis estadístico**

*Para el registro de los potenciales provocados somatosensoriales*

Para probar alguna diferencia estadísticamente significativa en los PPSs, consideramos 15 áreas normalizadas (AN) de la relación señal-ruido ( $RSR_{AN}$ ) para los seis niveles de FRO. Por lo cual, definimos cada nivel de fotoestimulación ruidosa optogenética como FRO-0: ruido cero, FRO-1: primer nivel de ruido, FRO-2: segundo nivel de ruido, FRO-3: tercer nivel de ruido, FRO-4: cuarto nivel de ruido y FRO-5: quinto nivel de ruido. Debido a que

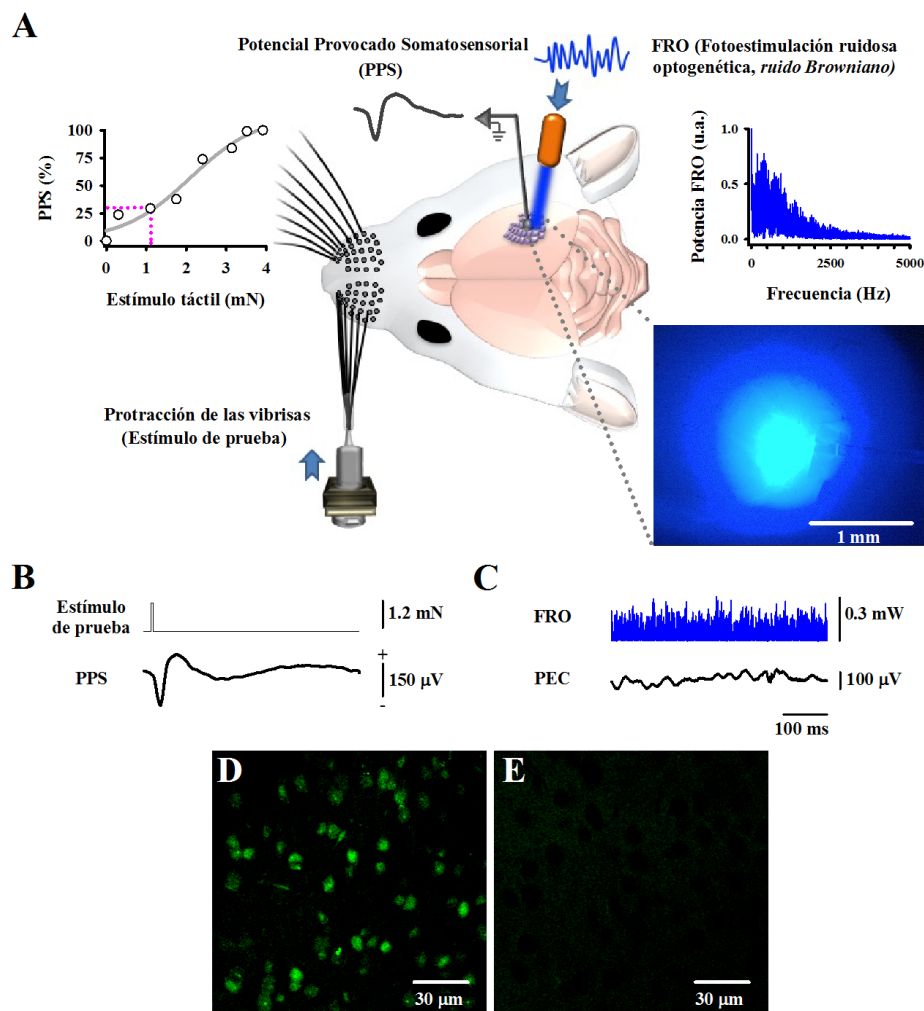
queríamos comparar las condiciones FRO-0 vs. FRO-1, FRO-0 vs. FRO-2, FRO-0 vs. FRO-3, FRO-0 vs. FRO-4, FRO-0 vs. FRO-5 y FRO-2 vs. FRO-5 o FRO-3 vs. FRO-5, realizamos el análisis estadístico de los datos correspondientes a estos seis niveles de ruido. Para examinar la significancia estadística de la  $RSR_{AN}$  entre las diferentes condiciones de FRO empleamos la prueba no paramétrica de los Rangos con Signo, bajo la hipótesis nula que las diferencias de las medias entre las condiciones FRO-0 vs. FRO-1, FRO-0 vs. FRO-2, FRO-0 vs. FRO-3, FRO-0 vs. FRO-4, FRO-0 vs. FRO-5 y FRO-2 vs. FRO-5 o FRO-3 vs. FRO-5, son cero. Debido a que realizamos múltiples comparaciones usamos la corrección de Bonferroni. En los ratones transgénicos, todos los resultados se reportaron como significativos si  $P < 0.008$ . Por otra parte, en los ratones WT, los resultados se reportaron como significativos si  $P < 0.01$ . Finalmente consideramos el valor de significancia a una cola.

#### *Para el registro de la actividad multiunitaria*

Para demostrar alguna diferencia estadística en los potenciales extracelulares multiunitarios en las diferentes intensidades de la FRO, usamos el *área de la  $RSR_{(Salida)}$*  para cada nivel de ruido (FRO-0, FRO-1, FRO-2, FRO-3, FRO-4 y FRO-5). Debido a que nuestros datos se distribuyeron normalmente (Prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov,  $P > 0.05$ ) y tuvieron homogeneidad en sus varianzas (Prueba de Levene,  $P > 0.05$ ); empleamos la prueba paramétrica ANOVA de medidas repetidas, bajo la hipótesis nula que la variable dependiente *área de la  $RSR_{(Salida)}$*  fue la misma a través de los factores. Además, empleamos la prueba de Mauchly para verificar que la suposición de esfericidad no se violara. Enseguida, realizamos la prueba *post hoc* de Tukey bajo la hipótesis nula que las diferencias entre las condiciones FRO-0 vs. FRO-1, FRO-0 vs. FRO-2, FRO-0 vs. FRO-3, FRO-0 vs. FRO-4, FRO-0 vs. FRO-5 y FRO-2 vs. FRO-5 o FRO-3 vs. FRO-5, son cero. Los resultados se reportaron como significativos si  $P < 0.05$ . Finalmente consideramos el valor de significancia a una cola.

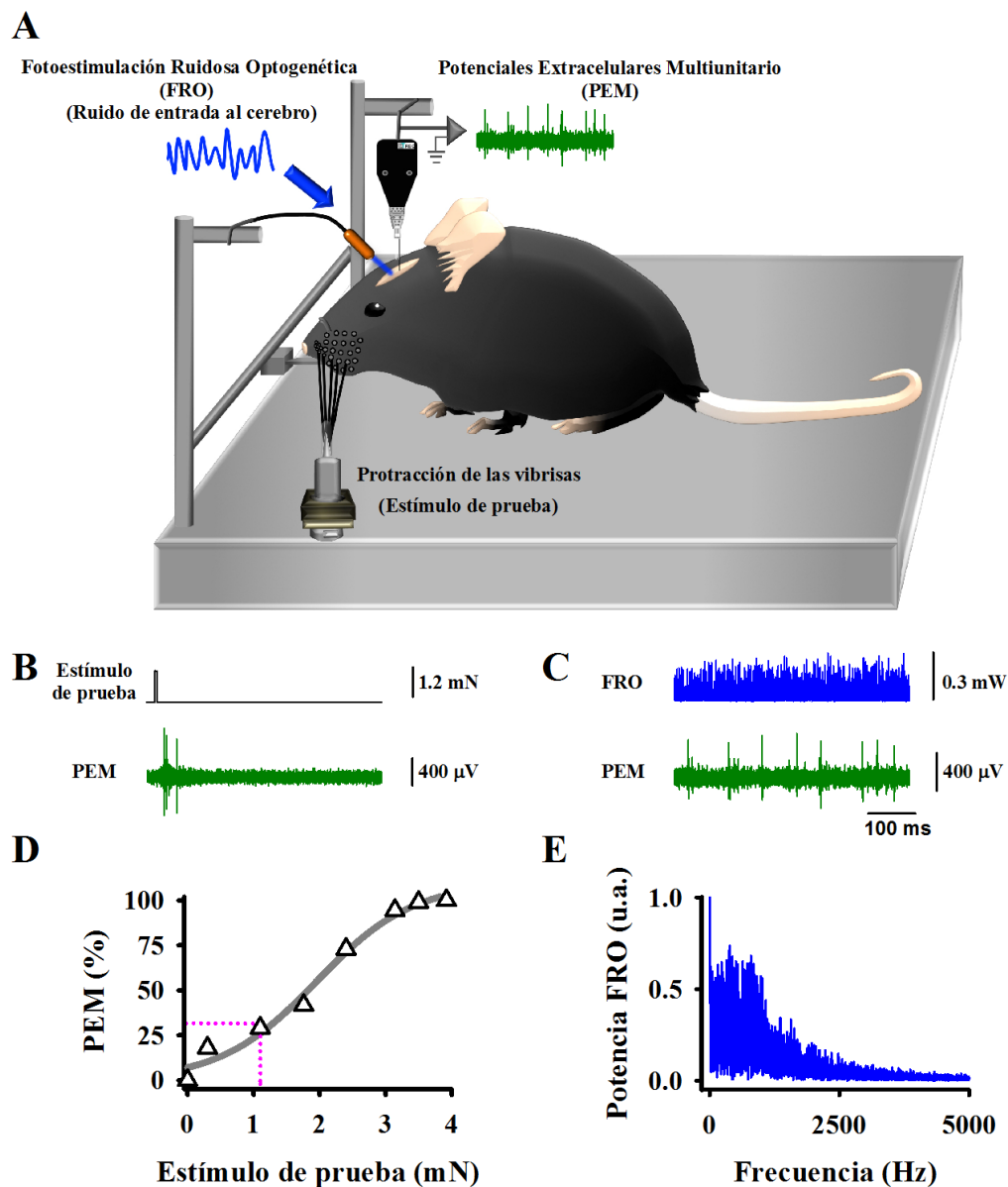
### **Análisis histológico**

Realizamos el protocolo CLARITY (Chung y Deisseroth, 2013) para el análisis histológico de la corteza cerebral somatosensorial (área de los barriles) con el propósito de obtener imágenes de las neuronas que expresaron la proteína ChR2. Para ello, se empleó un microscopio multifotónico (Olympus FV1000, Uprigh BX61WI, filtro YFP, objetivo de inmersión 20X) del Laboratorio Nacional de Microscopía Avanzada UNAM. La Figura 11D ilustra neuronas corticales somatosensoriales que expresaron ChR2-YFP en las láminas IV y V de la corteza de los barriles. Por otra parte, los ratones C57 (WT, controles) no expresaron ChR2-YFP (Figura 11).

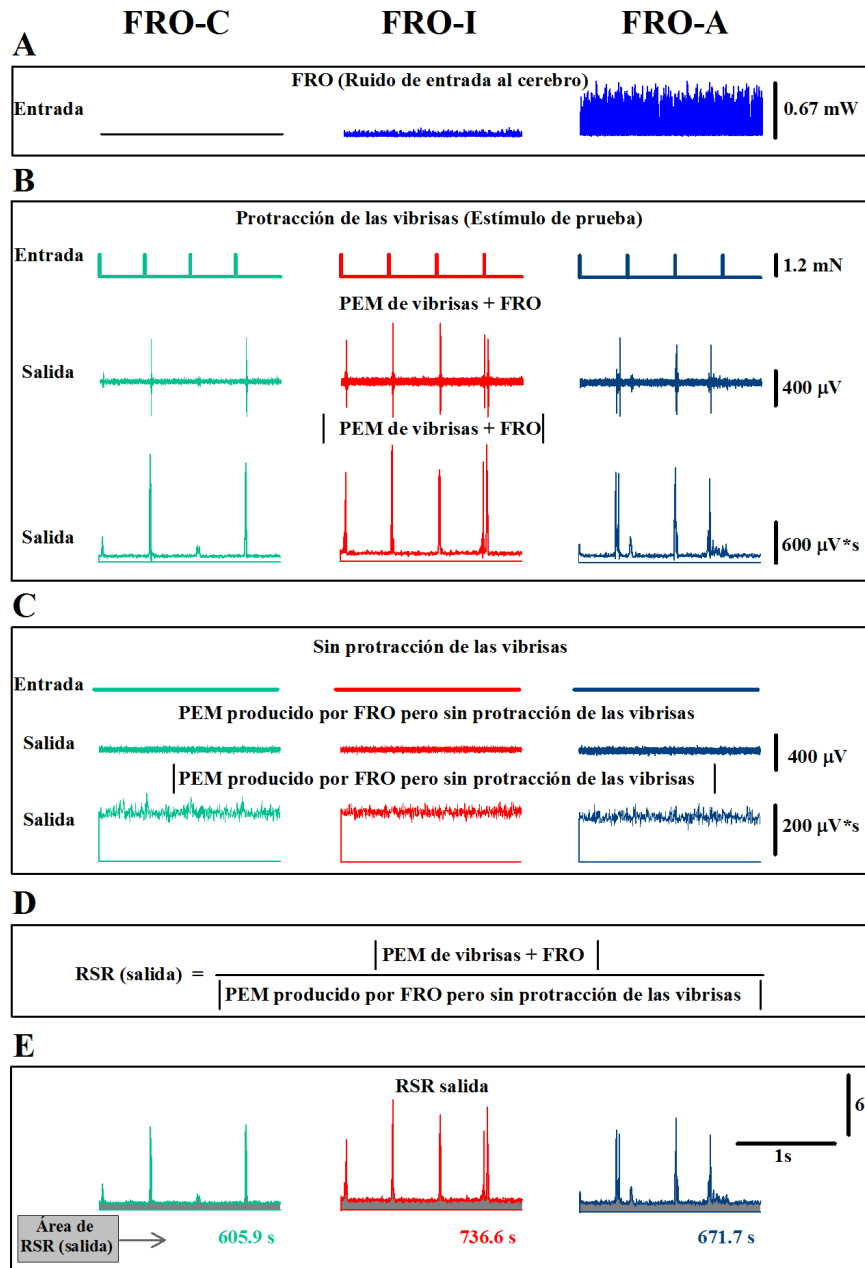


**Figura 11| Fotoestimulación ruidosa optogenética.** A. Esquema del arreglo experimental. El panel superior izquierdo muestra una curva entrada-salida de la intensidad de la protracción de las vibrisas versus la máxima amplitud del PPS. Las líneas punteadas magentas indican la intensidad del estímulo mecánico que produjo una respuesta cortical

del 30% con respecto a la máxima amplitud obtenida. El panel superior derecho ilustra el espectro de potencia del ruido de entrada que se empleó en la FRO. El panel inferior derecho muestra una imagen de la corteza de somatosensorial iluminada con la FRO. **B.** Promedio de PPSs de neuronas de la corteza de los barriles que responden a la protracción de las vibrisas. **C.** Promedio de los potenciales extracelulares de campo durante la aplicación de FRO continua (ruido de entrada). **D.** Micrografía de neuronas que expresan ChR2-YFP de las capas IV-V de la corteza somatosensorial de un ratón transgénico Thy1-ChR2-YFP. **E.** Micrografía de las capas IV-V de la corteza somatosensorial de un ratón WT.



**Figura 12| *Esquema del arreglo experimental de la actividad multiunitaria durante la fotoestimulación ruidosa optogenética de la corteza de los barriles.*** **A.** Esquema del arreglo experimental. **B.** PEM de neuronas de la corteza de los barriles que responden a la protracción de las vibrisas en la condición control. **C.** PEM durante la aplicación de FRO continua (ruido de entrada). **D.** Curva entrada-salida de la intensidad de la protracción de las vibrisas versus la máxima amplitud de los PEMs rectificadas e integradas. Las líneas punteadas magentas indican la intensidad del estímulo mecánico que produjo una respuesta cortical del 30% con respecto a la máxima respuesta obtenida. **E.** Espectro de potencia del ruido de entrada que se empleó en la FRO.



**Figura 13| Método para calcular el área de la RSR de los PEMs de la corteza somatosensorial.** **A.** Registros de la FRO aplicada a la corteza de los barriles. **B.** Pulso de prueba (protracción de las vibrisas), PEMs durante la aplicación de estímulos mecánicos y FRO, PEMs rectificados e integrados. **C.** Ausencia del estímulo de prueba, PEMs producidos por la únicamente por la FRO, PEMs rectificados e integrados producidos por la únicamente por la FRO **D.** Fórmula para calcular la RSR **E.** Área de la RSR calculada como el área bajo la curva de la RSR de salida (zona gris).

## CAPÍTULO 2

### RESULTADOS

---

---

#### **Efecto de la fotoestimulación ruidosa optogenética sobre la relación señal-ruido de los potenciales provocados somatosensoriales de ratones transgénicos y no transgénicos**

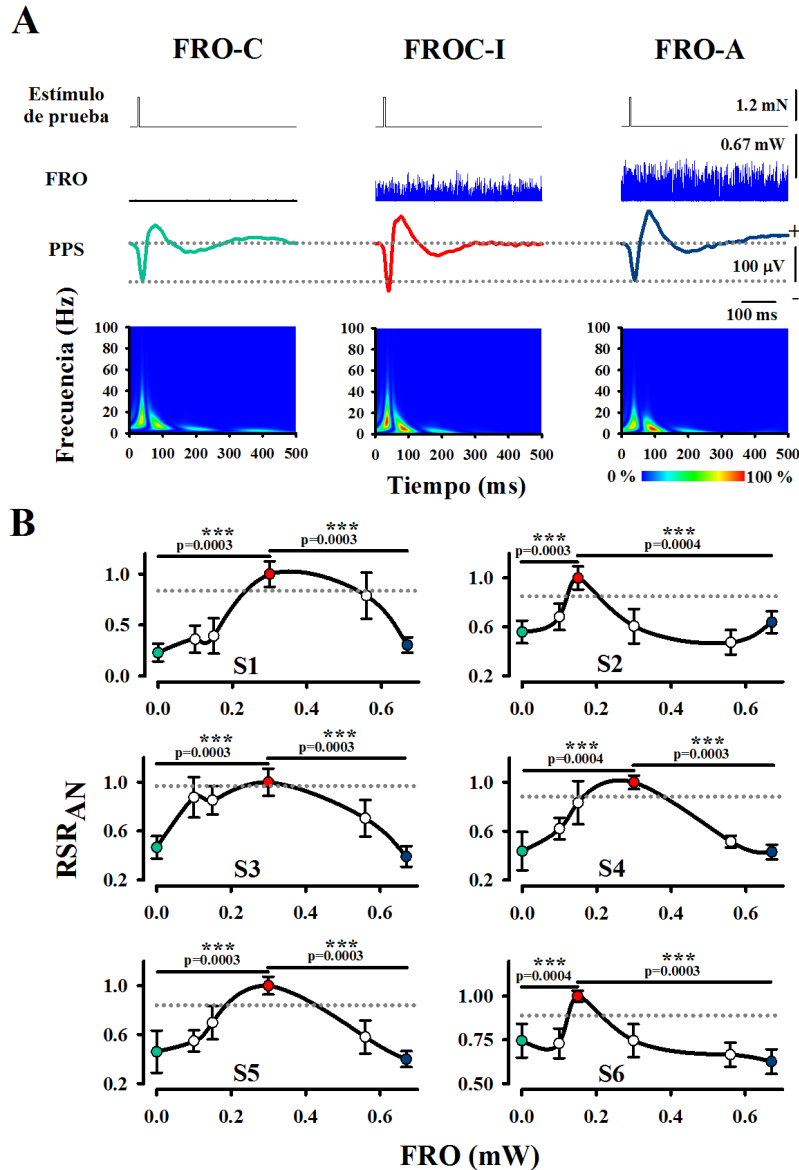
Realizamos experimentos en seis ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP, de los cuales obtuvimos resultados que demuestran que un nivel intermedio de fotoestimulación ruidosa optogenética incrementa la amplitud promedio de los PPSs producidos por la estimulación de las vibrisas. La Figura 14A muestra registros promediados del estímulo de prueba (pulso de protracción de las vibrisas), de la fotoestimulación ruidosa optogenética (ruido de entrada) y los PPSs para tres condiciones de ruido: cero, (FRO-C), intermedio (FRO-I) y alto (FRO-A), los cuales se obtuvieron de un ratón transgénico Thy1-ChR2-YFP. Las gráficas del panel inferior de la Figura 14A muestra los frecuenciogramas de los PPSs ilustrados en la parte superior.

De manera consistente con Flores y colaboradores (2016), calculamos el área de la RSR de los PPSs para cada nivel de ruido que aplicamos (ver la Sección de Métodos). La Figura 14B ilustra los resultados de 6 ratones transgénicos, en los cuales empleamos dicho método, para los diferentes niveles de FRO (0 – 0.67 mW). Posteriormente, normalizamos el área de la RSR ( $RSR_{AN}$ ) de los PPSs de vibrisas y encontramos que exhiben una forma de U-invertida en función de los diferentes niveles de FRO. Note que hay un nivel intermedio de FRO entre 0.1 y 0.67 mW que produce un aumento en la  $RSR_{AN}$ .

Para examinar la significancia estadística de la  $RSR_{AN}$  entre los seis niveles de FRO en una muestra de seis ratones transgénicos, realizamos la prueba no paramétrica de los Rangos con Signo para comparar: FRO-0 vs FRO-1, FRO-0 vs FRO-2, FRO-0 vs FRO-3,

FRO-0 vs FRO-4, FRO-0 vs FRO-5 y FRO-2 vs FRO-5 o FRO-3 vs FRO-5, en cada sujeto. En los sujetos S2 y S6, la comparación múltiple mostró una gran diferencia significativa entre FRO-0 vs. FRO-2 [**S2:** FRO-0 (Mdn = 0.47), FRO-2 (Mdn = 1.00),  $T = 0.00$ ,  $z = -3.41$ ,  $r = -0.88$ ,  $***p = 0.0003$ ; **S6:** FRO-0 (Mdn = 0.72), FRO-2 (Mdn = 1.00),  $T = 0.00$ ,  $z = -3.35$ ,  $r = -0.87$ ,  $***p = 0.0004$ ] y entre FRO-2 vs. FRO-5 [**S2:** FRO-2 (Mdn = 1), FRO-5 (Mdn = 0.58),  $T = 1.00$ ,  $z = -3.35$ ,  $r = -0.87$ ,  $***p = 0.0004$ ; **S6:** FRO-2 (Mdn = 1.00), FRO-5 (Mdn = 0.64),  $T = 0.00$ ,  $z = -3.41$ ,  $r = -0.88$ ,  $***p = 0.0003$ ]. Por otra parte, en los sujetos S1, S3, S4 y S5, los resultados de la  $RSR_{AN}$  en el nivel 3 de la FRO fueron altamente significativos en comparación al nivel 0 de la FRO [**S1:** FRO-0 (Mdn = 0.22), FRO-3 (Mdn = 1.00),  $T = 0.00$ ,  $z = -3.41$ ,  $r = -0.88$ ,  $***p = 0.0003$ ; **S3:** FRO-0 (Mdn = 0.44), FRO-3 (Mdn = 1.00),  $T = 0.00$ ,  $z = -3.41$ ,  $r = -0.88$ ,  $***p = 0.0003$ ; **S4:** FRO-0 (Mdn = 0.37), FRO-3 (Mdn = 1.00),  $T = 1.00$ ,  $z = -3.35$ ,  $r = -0.87$ ,  $***p = 0.0004$ ; **S5:** FRO-0 (Mdn = 0.43), FRO-3 (Mdn = 1.00),  $T = 0.00$ ,  $z = -3.41$ ,  $r = -0.88$ ,  $***p = 0.0003$ ]. Asimismo, los valores de  $RSR_{AN}$  para el nivel 3 de FRO mostraron diferencias significativas en comparación a los valores de  $RSR_{AN}$  para el nivel 5 de FRO [**S1:** FRO-3 (Mdn = 1.00), FRO-5 (Mdn = 0.28),  $T = 0.00$ ,  $z = -3.41$ ,  $r = -0.88$ ,  $***p = 0.0003$ ; **S3:** FRO-3 (Mdn = 1.00), FRO-5 (Mdn = 0.37),  $T = 0.00$ ,  $z = -3.41$ ,  $r = -0.88$ ,  $***p = 0.0003$ ; **S4:** FRO-3 (Mdn = 1.00), FRO-5 (Mdn = 0.37),  $T = 1.00$ ,  $z = -3.41$ ,  $r = -0.88$ ,  $***p = 0.0003$ ; **S5:** FRO-3 (Mdn = 1.00), FRO-5 (Mdn = 0.41),  $T = 0.00$ ,  $z = -3.41$ ,  $r = -0.88$ ,  $***p = 0.0003$ ] (ver Tabla 1).

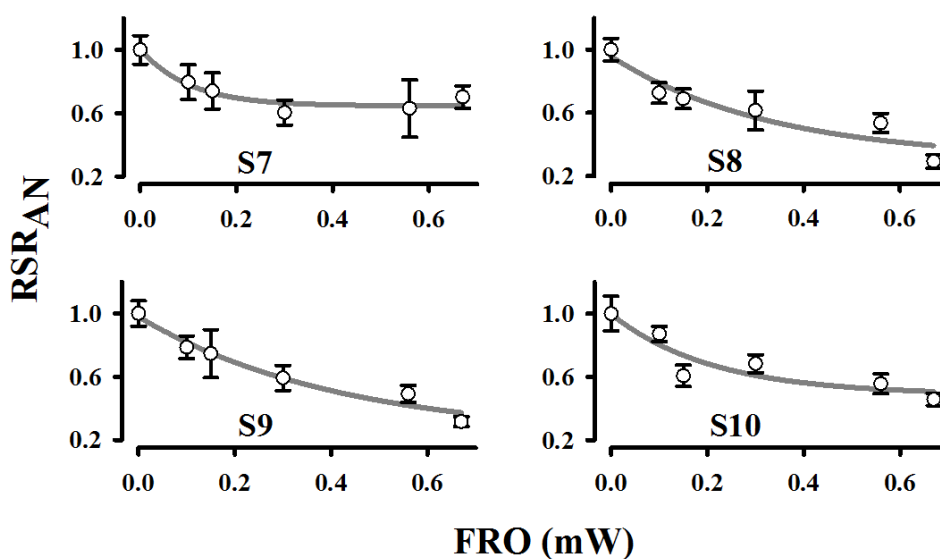
Estos resultados demuestran que la fotoestimulación ruidosa optogenética sobre la corteza cerebral somatosensorial produce una forma de U-invertida en la  $RSR_{AN}$  de los PPSs de la corteza de los barriles en los ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP.



**Figura 14| Efecto de la FRO en la amplitud de los PPSs y del área normalizada de la RSR en la corteza somatosensorial de ratones transgénicos *Thy1-ChR2-YFP*. A.** Promedio de los PPSs para los seis ratones transgénicos durante tres niveles de FRO: cero (FRO-C, 0.0 mW), intermedio (FRO-I, 0.3 mW) y alto (FRO-A, 0.67 mW). El estímulo de prueba de 1.2 mN produjo PPSs con una amplitud del 30% con respecto a la máxima amplitud registrada. Los mapas del panel inferior ilustran frecuenciogramas del efecto de la FRO en los PPSs ilustrados en el panel superior. **B.** Áreas normalizadas del área de la RSR ( $RSR_{AN}$ , media  $\pm$  error estándar) de los PPSs vs. FRO (ruido de entrada en mW) para todos los ratones transgénicos *Thy1-ChR2-YFP* ( $n=6$ ). Note la forma de U-invertida para todos

los sujetos. Las líneas horizontales representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

En otra serie de cuatro experimentos, analizamos los efectos de la fotoestimulación ruidosa optogenética sobre el área normalizada de la RSR cuando el nivel de estimulación mecánica ( $\sim 4$  mN) y la cual produjo PPSs con una amplitud del 100%. De manera consistente con los reportado por Manjarrez y colaboradores (2007), observamos un decremento en el área normalizada de la RSR en función de diferentes intensidades del ruido de entrada (FRO) (Figura 15). Los resultados anteriores demuestran que el nivel de estimulación periódica debe ser de intensidad “débil” para que observemos un efecto del ruido (forma de U-invertida). Por el contrario, si aplicamos una intensidad “alta” del estímulo mecánico estamos saturando al sistema, causando con ello el decremento de las respuestas sensoriales.

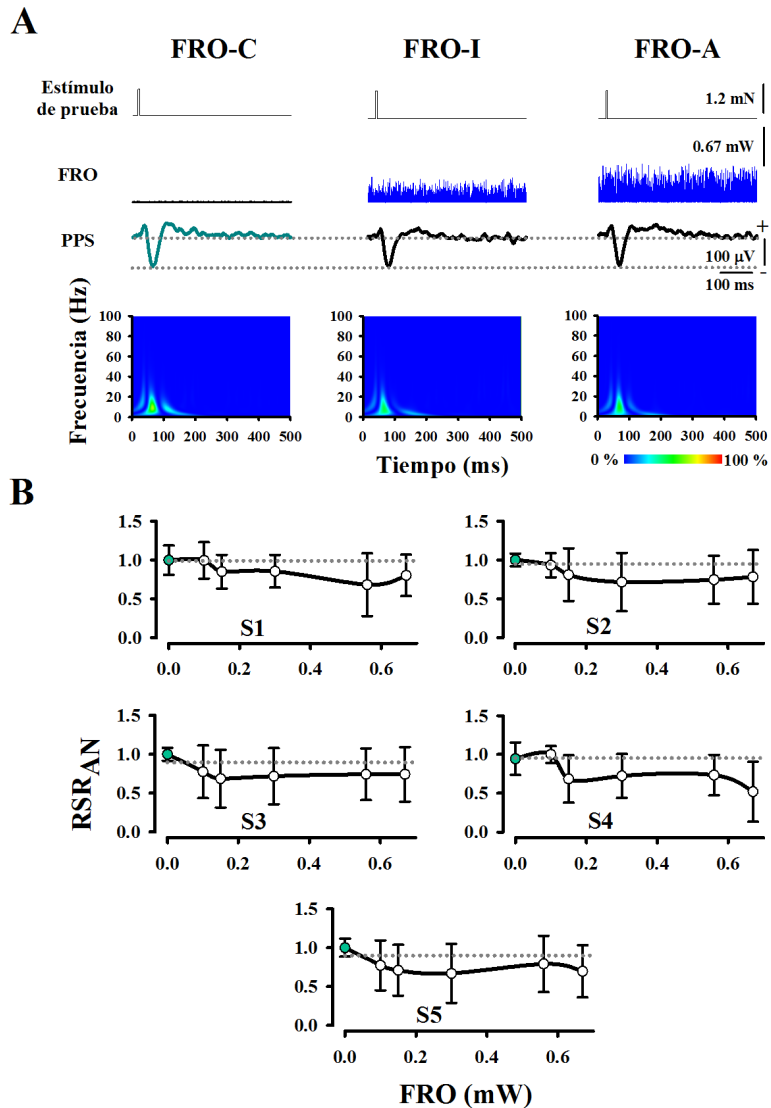


**Figura 15| Efecto de la FRO en el área normalizada de la RSR en la corteza somatosensorial de ratones transgénicos *Thy1-ChR2-YFP* durante la aplicación de estímulos mecánicos de alta intensidad y diferentes niveles de ruido.** Áreas normalizadas del área de la RSR ( $RSR_{AN}$ ) de los PPSs vs. FRO (ruido de entrada en mW) para todos los ratones transgénicos *Thy1-ChR2-YFP* ( $n=4$ ). Note el decremento de la  $RSR_{AN}$  durante la adición diferentes niveles de fotoestimulación ruidosa optogenética. Cada valor de las gráficas corresponde a la media  $\pm$  error estándar.

Asimismo, en cinco ratones silvestres de la cepa C57 (*WT*), calculamos el área de la RSR de los PPSs para cada nivel de estimulación ruidosa optogenética (ruido de entrada) que aplicamos de manera continua. La Figura 15B ilustra las áreas normalizadas de la RSR de los PPSs de vibrisas y encontramos que las gráficas de la  $RSR_{AN}$  vs. los diferentes niveles de FRO no exhiben la forma de U-invertida, como la que observamos en los ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP.

No obstante, para determinar si los valores de las  $RSR_{AN}$  que obtuvimos de los ratones silvestres mostraban diferencias estadísticas significativas realizamos la prueba de los Rangos con Signo, entre las condiciones de FRO antes mencionadas. Los resultados que obtuvimos no mostraron diferencias estadísticamente significativas, lo cual nos da evidencia de que los efectos de la fotoestimulación ruidosa optogenética sólo ocurre en los ratones transgénicos (ver Tabla 1 y Figura 16).

Interesantemente, en una serie de experimentos en ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP, en los cuales, aplicamos fotoestimulación sinusoidal optogenética (a 15 Hz de frecuencia, en el mismo rango de intensidad de la FRO: 0.00 – 0.67 mW) en lugar de la fotoestimulación ruidosa optogenética. Como esperábamos, no encontramos un aumento de la amplitud de los PPSs para dicha estimulación periódica. Con lo cual, confirmamos que el fenómeno de amplificación tipo *resonancia estocástica* de la  $RSR_{AN}$  de los PPSs producidos por la FRO está relacionado con una *facilitación estocástica*.



**Figura 16 | Efecto de la FRO en la amplitud de los PPSs y del área normalizada de la RSR en la corteza somatosensorial de ratones silvestres de la cepa C57 (WT). A.** Promedio de los PPSs para los cinco ratones C57 durante tres niveles de FRO: cero (FRO-C, 0.0 mW), intermedio (FRO-I, 0.3 mW) y alto (FRO-A, 0.67 mW). El estímulo de prueba de 1.2 mN produjo PPSs con una amplitud del 30% con respecto a la máxima amplitud registrada. Los mapas del panel inferior ilustran frecuenciogramas del efecto de la FRO en los PPSs ilustrados en el panel superior. **B.** Áreas normalizadas del área de la RSR ( $RSR_{AN}$ , media  $\pm$  error estándar) de los PPSs vs. FRO (ruido de entrada en mW) para todos los ratones C57 ( $n=5$ ). Note que no se exhibe la forma de U-invertida para todos los sujetos en comparación a los datos que se obtuvieron para los ratones transgénicos. Las líneas horizontales representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

**Tabla 1 | Datos del análisis estadístico no paramétrico para la comparación de la RSR<sub>AN</sub> en diferentes niveles de fotoestimulación ruidosa optogenética en seis ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP y 5 ratones silvestres C57 (WT)**

Prueba de los rangos con signo																		
Transgénicos	FRO-0 vs. FRO-1						FRO-0 vs. FRO-2						FRO-0 vs. FRO-3					
	FRO0-Mdn	FRO1-Mdn	T	z	r	p	FRO0-Mdn	FRO2-Mdn	T	z	r	p	FRO0-Mdn	FRO3-Mdn	T	z	r	p
S1	0.22	0.33	24.00	-2.05	-0.53	0.02	0.22	0.35	4.00	-3.18	-0.82	0.0007	0.22	1.00	0.00	-3.41	-0.88	0.0003
S2	0.47	0.61	23.00	-2.10	-0.54	0.018	0.47	1.00	0.00	-3.41	-0.88	0.0003	0.47	0.57	58.00	-0.11	-0.03	0.45
S3	0.44	0.83	0.00	-3.35	-0.86	0.0004	0.44	0.79	0.00	-3.35	-0.87	0.0004	0.44	1.00	0.00	-3.41	-0.88	0.0003
S4	0.37	0.60	21.00	-2.22	-0.57	0.01	0.37	0.95	12.00	-2.73	-0.7	0.003	0.37	1.00	1.00	-3.35	-0.87	0.0004
S5	0.43	0.54	24.00	-2.05	-0.53	0.02	0.43	0.67	13.00	-2.67	-0.69	0.003	0.43	1.00	0.00	-3.41	-0.88	0.0003
S6	0.72	0.76	56.00	-0.23	-0.06	0.41	0.72	1.00	1.00	-3.35	-0.87	0.0004	0.72	0.81	59.00	-0.06	-0.02	0.48
Transgénicos	FRO-0 vs. FRO-4						FRO-0 vs. FRO-5						FRO-2 vs. FRO-5, FRO-3 vs. FRO-5					
	FRO0-Mdn	FRO4-Mdn	T	z	r	p	FRO0-Mdn	FRO5-Mdn	T	z	r	p	FRO2-FRO3-Mdn	FRO5-Mdn	T	z	r	p
S1	0.22	0.78	1.00	-3.35	-0.87	0.0004	0.22	0.28	15.00	-2.56	-0.66	0.005	1.00	0.28	0.00	-3.41	-0.88	0.0003
S2	0.47	0.39	39.00	-1.19	-0.31	0.012	0.47	0.58	19.00	-2.33	-0.60	0.01	1.00	0.58	1.00	-3.35	-0.87	0.0004
S3	0.44	0.65	0.00	-3.35	-0.86	0.0004	0.44	0.37	11.00	-2.78	-0.72	0.005	1.00	0.37	0.00	-3.41	-0.88	0.0003
S4	0.37	0.50	28.00	-1.82	-0.47	0.045	0.37	0.37	47.00	-0.74	-0.14	0.23	1.00	0.37	0.00	-3.41	-0.88	0.0003
S5	0.43	0.55	26.00	-1.93	-0.50	0.027	0.43	0.41	48.00	-0.68	-0.18	0.25	1.00	0.41	0.00	-3.41	-0.88	0.0003
S6	0.72	0.69	29.00	-1.76	0.45	0.039	0.72	0.64	22.00	-2.16	-0.56	0.02	1.00	0.64	0.00	-3.41	-0.88	0.0003
WT	FRO-0 vs. FRO-1						FRO-0 vs. FRO-2						FRO-0 vs. FRO-3					
	FRO0-Mdn	FRO1-Mdn	T	z	r	p	FRO0-Mdn	FRO2-Mdn	T	z	r	p	FRO0-Mdn	FRO3-Mdn	T	z	r	p
S1	0.89	0.97	60.00	0.00	0.00	0.5	0.89	0.75	40.00	-1.14	-0.29	0.13	0.89	0.75	43.00	-0.97	-0.25	0.17
S2	0.97	0.91	29.00	-1.48	-0.38	0.07	0.97	0.94	25.00	-0.71	-0.18	0.24	0.97	0.85	15.00	-1.60	-0.41	0.05
S3	0.93	0.87	45.00	-0.85	-0.22	0.19	0.93	0.80	36.00	-1.04	-0.27	0.16	0.93	0.88	44.00	-0.91	-0.23	0.18
S4	0.96	0.98	54.00	-0.34	-0.08	0.37	0.96	0.62	36.00	-1.36	-0.35	0.08	0.96	0.53	36.00	-1.04	-0.27	0.15
S5	0.92	0.80	34.00	-0.80	-0.20	0.21	0.92	0.69	36.00	-1.36	-0.35	0.08	0.92	0.75	28.00	-1.54	-0.39	0.06
WT	FRO-0 vs. FRO-4						FRO-0 vs. FRO-5											
	FRO0-Mdn	FRO4-Mdn	T	z	r	p	FRO0-Mdn	FRO5-Mdn	T	z	r	p						
S1	0.89	0.65	45.00	-0.85	-0.22	0.19	0.89	0.65	46.00	-0.80	-0.20	0.21						
S2	0.97	0.84	28.00	-1.22	-0.32	0.11	0.97	0.85	45.00	-0.85	-0.22	0.19						
S3	0.93	0.86	42.50	-1.00	-0.25	0.16	0.93	0.84	45.50	-0.82	-0.21	0.2						
S4	0.96	0.65	36.00	-1.36	-0.35	0.08	0.96	0.34	28.00	-1.54	-0.39	0.06						
S5	0.92	0.95	42.00	-1.02	-0.26	0.15	0.92	0.62	36.00	-1.36	-0.35	0.08						

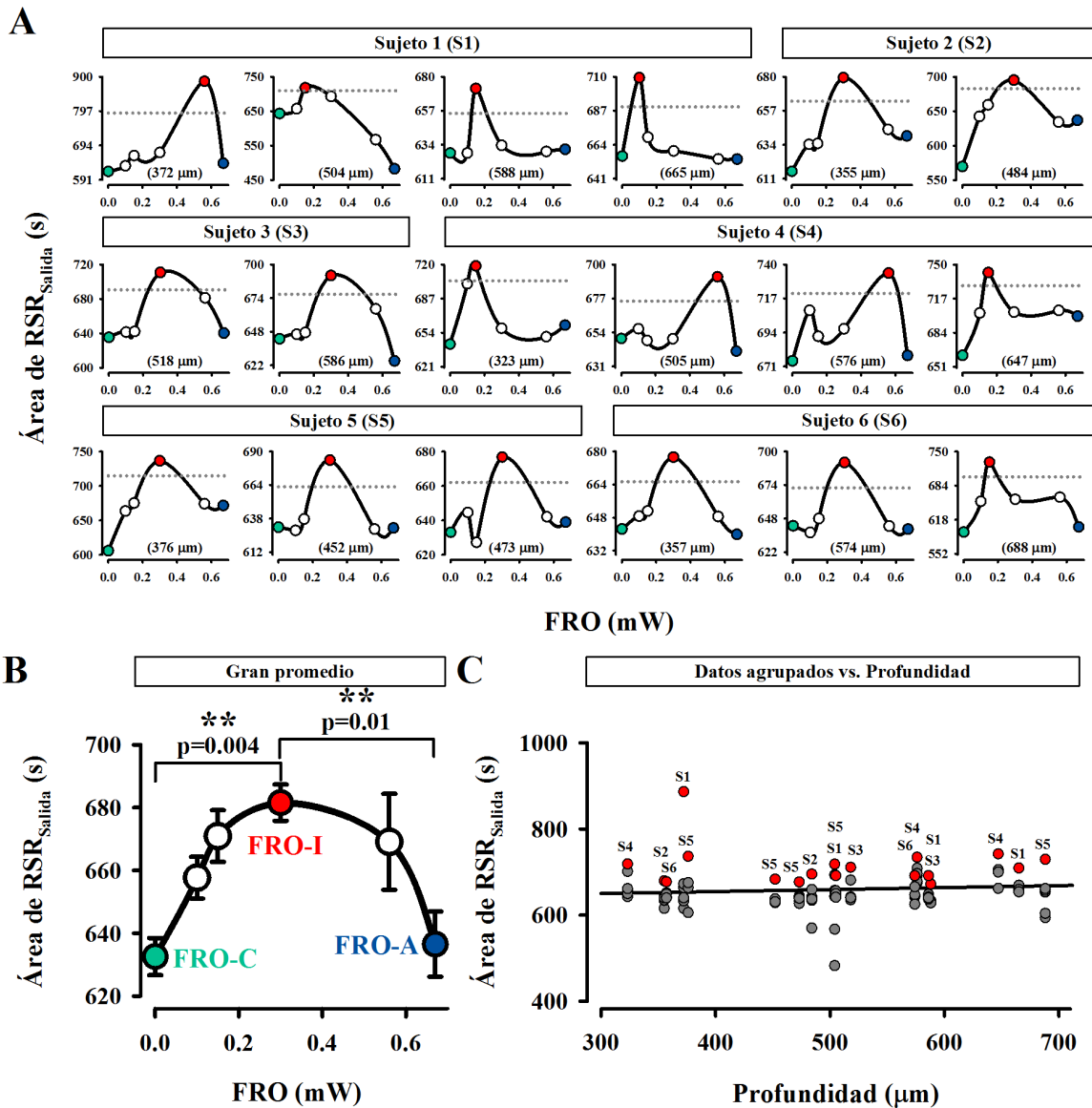
(FRO, fotoestimulación ruidosa optogenética: nivel cero (FRO-0), nivel uno (FRO-1), nivel dos (FRO-2), nivel 3 (FRO-3), nivel 4 (FRO-4) y nivel 5 (FRO-5); S1 = sujeto 1, S2 = sujeto 2, S3 = sujeto 3, S4 = sujeto 4, S5 = sujeto 5 y S6 = sujeto 6; Mdn = mediana).

## **Efecto de la fotoestimulación ruidosa optogenética sobre la relación señal-ruido de los potenciales extracelulares multiunitarios de ratones transgénicos y no transgénicos y en un modelo de neuronas que expresan ChR2**

Registramos potenciales extracelulares multiunitarios de las vibrisas en diferentes profundidades (en  $\mu\text{m}$ ) de la corteza cerebral en ratones transgénicos (**S1**:372, 504, 588, 665; **S2**: 355, 484, **S3**: 518, 586; **S4**: 505, 576, 647; **S5**: 376, 452, 473 y **S6**: 357, 574, 688) y ratones silvestres (**S1**: 309, 351, 604; **S2**: 452, 500, 641; **S3**: 454, 529, 578, 689; **S4**: 465, 508, 513; **S5**: 357, 436, 533 y **S6**: 415, 600). Con dichos PEMs, calculamos el área de la RSR y construimos gráficas del área de la RSR versus diferentes niveles de FRO (Ver sección de Métodos). La Figura 17A muestra las gráficas del área de la RSR versus la FRO que obtuvimos para seis ratones transgénicos. Note que hay una intensidad intermedia de FRO para la cual el área de la RSR tiene un valor máximo, siguiendo una forma de U-invertida. La Figura 17B ilustra el gran promedio del área de la RSR versus la fotoestimulación ruidosa optogenética que calculamos para todos los experimentos. La Figura 17C muestra que la distribución del área de la RSR (círculos grises y rojos) fue similar independientemente de la profundidad del registro.

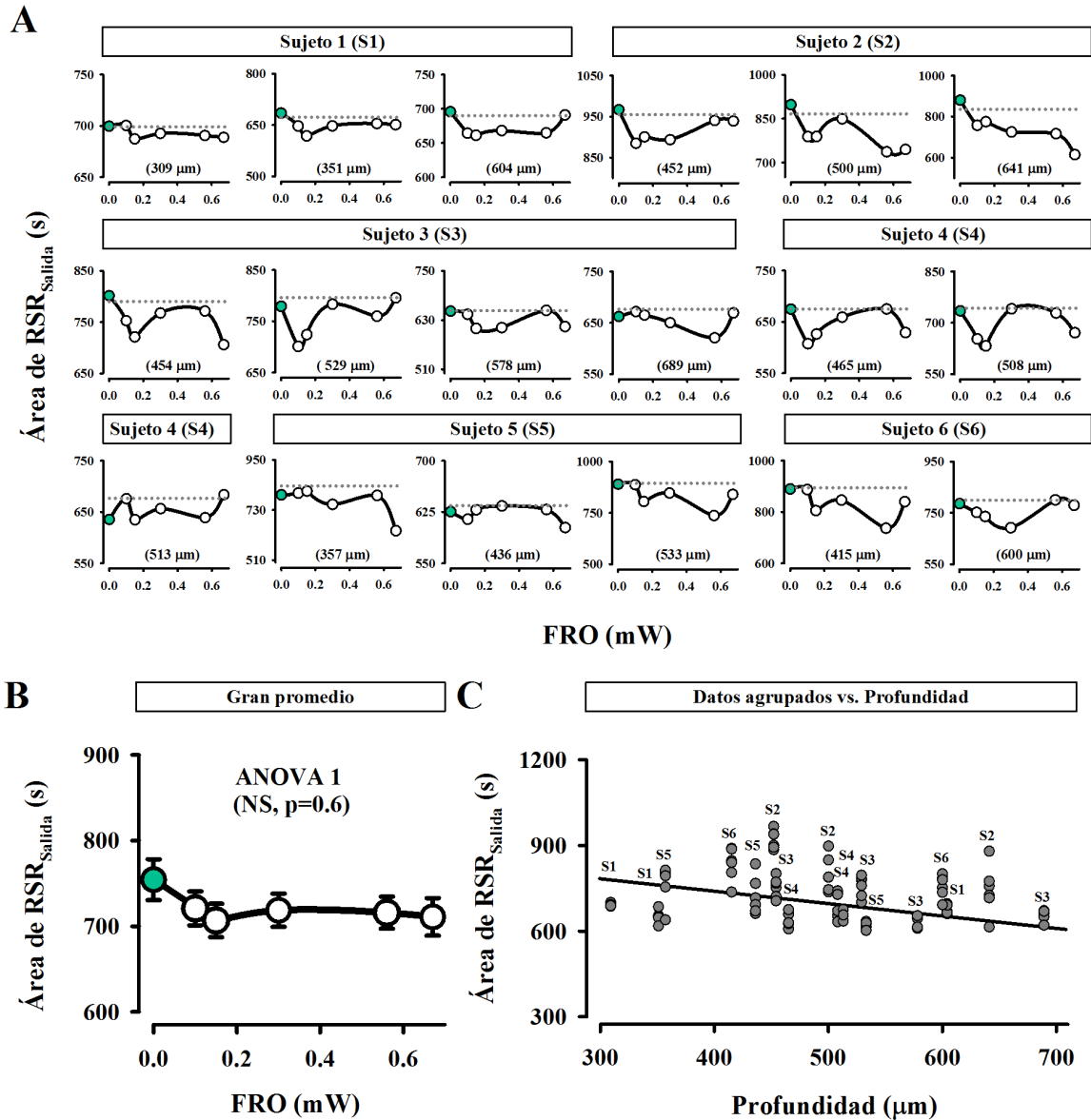
Para examinar la significancia estadística del área de la RSR en ratones transgénicos y silvestres, realizamos dos pruebas paramétricas ANOVA de medidas repetidas entre los seis niveles de FRO (Tabla 2). En los seis ratones transgénicos, los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las seis condiciones de FRO ( $F [5,102] = 4.5$ ,  $P = 0.0009$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre FRO-0 vs. FRO-2 ( $P = 0.049$ ), FRO-0 vs. FRO-3 ( $P = 0.004$ ) y FRO-3 vs. FRO-5 ( $P = 0.01$ ), pero no así entre FRO-0 vs. FRO-1 ( $P = 0.4$ ), FRO-0 vs. FRO-4 ( $P = 0.07$ ) y FRO-0 vs. FRO-5 ( $P = 0.9$ ). Por otra parte, como un control experimental, examinamos el efecto de la FRO en el área de la RSR para las respuestas multiunitarias que registramos en ratones silvestres de la cepa C57. Aplicamos el mismo paradigma experimental que el aplicado a los ratones transgénicos. Como esperábamos, no encontramos efectos de la FRO en el área de la RSR. En los seis ratones silvestres, los

resultados no mostraron diferencias significativas ( $F [5, 102] = 0.68, P = 0.6$ ) (Figura 18, ver Tabla 2).



**Figura 17 | Efectos de la FRO en RSR de los PEMs de neuronas de la corteza somatosensorial de ratones transgénicos *Thy1-ChR2-YFP*.** **A.** Área de la RSR versus seis intensidades de FRO, para seis ratones transgénicos. La profundidad del registro se indica arriba del eje de las abscisas. **B.** Gran promedio del área de la RSR (media  $\pm$  error estándar), para todos los ejemplos ilustrados en A ( $n=18$ ). Note que se exhibe la forma de U-invertida. **C.** Gráfica del área de la RSR versus la profundidad en la cual registramos los PEMs. Los círculos grises y rojos representan los datos agrupados de todos los experimentos. El círculo rojo representa el nivel máximo del área de la RSR que se ilustra

en A. Note que no existe correlación entre el área de la RSR y la profundidad del registro. Las líneas horizontales en A representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.



**Figura 18 | Efectos de la FRO en RSR de los PEMs de neuronas de la corteza somatosensorial de ratones C57. A.** Área de la RSR versus seis intensidades de FRO, para seis ratones silvestres C57. La profundidad del registro se indica arriba del eje de las abscisas. **B.** Gran promedio del área de la RSR (media  $\pm$  error estándar), para todos los ejemplos ilustrados en A ( $n=18$ ). Note que no se exhibe la forma de U-invertida. **C.** Gráfica del área de la RSR versus la profundidad en la cual registramos los PEMs. Los círculos grises representan los datos agrupados de todos los experimentos. Note que no existe

correlación entre el área de la RSR y la profundidad del registro. Las líneas horizontales en A representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

Para comprender con más detalle los mecanismos fisiológicos asociados con el impacto de la fotoestimulación ruidosa optogénica en las neuronas que expresan ChR2, implementamos un modelo neuronal de un compartimento (Figura 19). Por lo cual, empleamos el entorno de simulación multidominio de Simulink (MathWorks 2013 Inc.) para implementar esta simulación. Combinamos una parte del modelo ChR2 original de Grossman y Nikolic (2011) con el modelo clásico de Hodgkin-Huxley (1952) y algunos parámetros descritos por Foutz y cols. (2012). Además, agregamos un término en la ecuación que representa una irradiación ruidosa que incide en las neuronas modeladas que expresan ChR2.

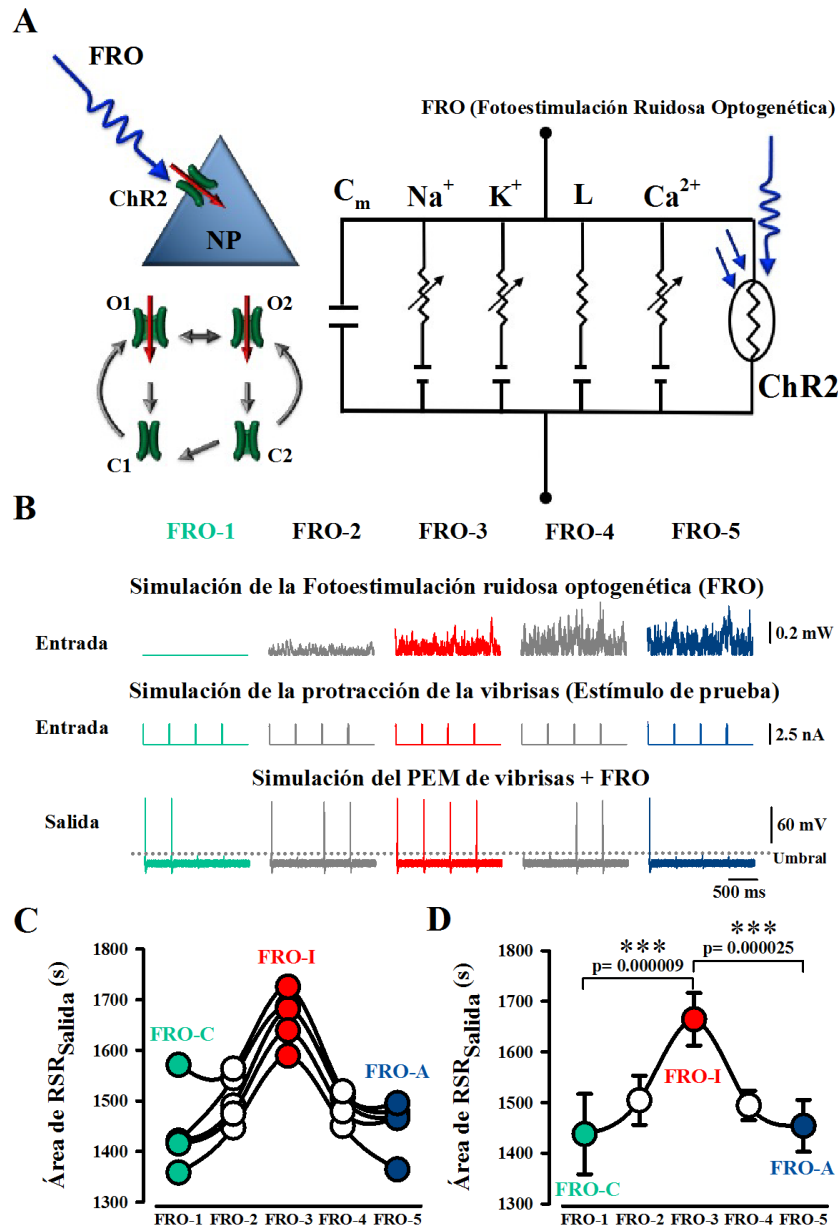
Empleamos los siguientes parámetros para la modelación de ChR2: *tasas de activación (m/s)*:  $Ka1 = 0.5 \Phi$  y  $Ka2 = 0.12 \Phi$  y *tasas de cierre (m/s)*:  $Kd1 = 0.1 \Phi$  y  $Kd2 = 0.05 \Phi$ ,  $e12 = (0.011 + 0.005 \log(\Phi/0.024))$  m/s,  $e21 = (0.008 + 0.004 \log(\Phi/0.024))$  m/s,  $Kr = (1/3000)$  m/s y  $\lambda = 470$  nm. El símbolo  $\Phi$  representa el flujo fotónico que incide en una proteína ChR2 (fotones/ms). También, empleamos los siguientes parámetros descritos por Foutz y cols. (2012):  $gO1=5e-11$  mS,  $gO2=2.5e-12$  mS con una sección transversal retinal =  $1.2 \text{ \AA} \sim 10^{-8} \mu\text{m}^2$ . Los parámetros del modelo y las funciones de velocidad para las corrientes iónicas se obtuvieron del modelo de Sharma y Garg (2014):  $gCa=116\mu\text{S}$ , del modelo de Grossman y Nikolic (2011):  $gCa=4$  mS y  $E_{Ca}=140$  mV y de Hodgkin y Huxley (1952):  $gNa=120$  mS,  $gK=3$  mS,  $gLeak=0.3$  mS,  $E_{Na}=115$  mV,  $E_{K}=-12$  mV,  $E_{Ca}=140$  mV,  $E_{Leak}=10.613$  mV,  $V_{rest}=-70$  mV,  $C_m=1$  pF. Mantuvimos una diversidad constante en el voltaje de membrana usando el bloque *número aleatorio uniforme* de Simulink con un valor diferente para cada iteración a través de la función *randi*.

Además, adicionamos 5 niveles de irradiancia ruidosa (fotoestimulación ruidosa optogénica: FRO-1, FRO-2, FRO-3, FRO-4 y FRO-5, Figura 19B). De manera consistente al método que empleamos para el análisis de los datos experimentales, analizamos el *área de la RSR* de los potenciales de acción producidos por la inyección de 32 pulsos de corriente (duración = 5 ms y periodo interpulso = 500 ms) cercanos al umbral. Generamos

la fotoestimulación ruidosa optogenética (*ruido Browniano*) a través del bloque *número aleatorio uniforme* de Simulink con un valor diferente para cada iteración a través de la función *randi*. Posteriormente, usamos el filtro Butterworth con un corte a los 0.1 rad/s. En particular, aplicamos FRO-C = 0 mW/mm<sup>2</sup>, FRO-I = 0.275 mW/mm<sup>2</sup> y FRO-A = 0.55 mW/mm<sup>2</sup>. Interesantemente, obtuvimos resultados similares en cinco simulaciones completas (Figura 19C). La Figura 19D muestra el gran promedio de las 5 simulaciones que obtuvimos.

Para examinar la significancia estadística de nuestras simulaciones, analizamos el área de la RSR para 5 repeticiones del modelo ChR2. Realizamos una prueba paramétrica ANOVA de medidas repetidas entre las 5 condiciones de FRO. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas (F [4,20]=13.71=0.000015). La prueba de comparación múltiple reveló diferencias significativas entre FRO-0 vs. FRO-2 (p=0.000009) y FRO-2 vs. FRO-4 (p=0.000025), pero no entre FRO-0 vs. FRO-1 (p=0.17), FRO-0 vs. FRO-3 (p=0.24) y FRO-1 vs. FRO-4 (p=0.49), (ver Tabla 2).

Los resultados experimentales y de la simulación son consistentes entre sí. Los datos de la Figura 17A, B son comparables con los de la simulación Figura 19B. Además, ambos resultados exhiben formas de U-invertida y existen diferencias estadísticamente significativas (Figura 17B y Figura 19D). Los resultados anteriores validan la fiabilidad de nuestro modelo ChR2, ya que reproducen nuestros datos experimentales de los ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP.



**Figura 19 | Efectos de la FRO simulada en un modelo de neuronas que expresan ChR2.**

**A.** Esquema del modelo ChR2 de cuatro estados (O1: abierto 1, O2: abierto 2, C1: cerrado 1 y C2: cerrado 2) **B.** Simulación de la FRO, de la protracción de las vibrisas con pulsos de corriente (% ms de duración y periodo interpulsos de 500 ms) y de los PEMs de las vibrisas + FRO **C.** Datos agrupados para 5 simulaciones del modelo. El área de la RSR se calculó con el método descrito en la Figura X. **D.** Promedio de los datos agrupados en C. Note que el modelo exhibe un fenómeno parecido a la RE producida por la adición de pulsos de corriente y fotoestimulación ruidosa optogénica. Estos datos reproducen nuestros resultados experimentales.

**Tabla 2 | Datos del análisis estadístico paramétrico para la comparación del área de la RSR en diferentes niveles de fotoestimulación ruidosa optogenética en ratones transgénicos *Thy1-ChR2-YFP*, ratones silvestres *C57 (WT)* y simulaciones de un modelo de neuronas que expresan *ChR2***

	ANOVA 1				Prueba de Tukey					
	n	F	gl	p	FRO0 vs. FRO1	FRO0 vs. FRO2	FRO0 vs. FRO3	FRO0 vs. FRO4	FRO0 vs. FRO5	FRO3 vs. FRO5
Transgénicos	18.00	4.50	107.00	0.0009	0.40	0.05	0.004	0.07	0.9	0.01
WT	18.00	0.68	107.00	0.60	-	-	-	-	-	-
Modelo	5.00	13.71	24.00	0.000015	FRO1 vs. FRO2	FRO1 vs. FRO3	FRO1 vs. FRO4	FRO1 vs. FRO5	FRO3 vs. FRO5	
					0.17	0.000009	0.24	0.49	0.38	

(FRO, fotoestimulación ruidosa optogenética: nivel cero (FRO-0), nivel uno (FRO-1), nivel dos (FRO-2), nivel 3 (FRO-3), nivel 4 (FRO-4) y nivel 5 (FRO-5), gl = grados de libertad).

---

---

## **CAPÍTULO 3**

# **EFEECTO DEL RUIDO AUDITIVO Y TÁCTIL SOBRE LA ACTIVIDAD ELÉCTRICA VISUAL DE LOS COLÍCULOS SUPERIORES**

---

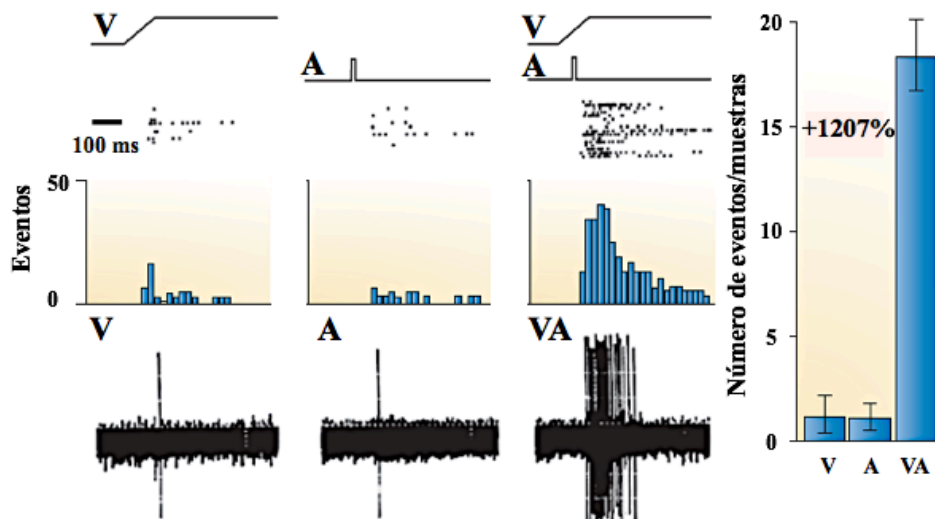
---

### **INTRODUCCIÓN**

Los colículos superiores (CS) están íntimamente involucrados en la localización, atención y orientación de los estímulos sensoriales, y es probablemente el área subcortical más estudiada, con un papel importante en las interacciones multisensoriales. Estas funciones están respaldadas por la convergencia de información visual, auditiva, somatosensorial, vestibular y propioceptiva a las células de láminas profundas (Meredith y Stein, 1986).

No obstante, uno de los campos crecientes de las neurociencias es el estudio de la integración multisensorial. Ya que el interés es el de conocer cómo se da la integración de la información mediante los sentidos, y con ello, los cambios que existen en el comportamiento y en la percepción. Los sentidos sirven como portales a través de los cuales el cerebro interactúa en ambientes *ruidosos*. Además, pueden compensarse unos a otros cuando es necesario, y complementarse cuando se realiza algún evento (Meredith y Stein, 1983; Stein y Meredith, 1993; Stein y cols., 2009). Los CS son un excelente modelo para explorar la integración multisensorial (Stein y Meredith, 1993, Fuentes-Santamarina y cols., 2009), ya que sus neuronas multisensoriales pueden generar respuestas a estímulos de más de una modalidad sensorial, o su respuesta a un estímulo podría alterarse por la presencia de otro estímulo de diferente modalidad sensorial (Stein y Meredith, 1993). Los CS están acoplados a patrones específicos: detección, orientación y localización. La

integración multisensorial enriquece nuestras experiencias sensoriales e incrementan la agudeza de nuestros juicios de eventos ambientales. Así, la integración multisensorial es de máxima utilidad cuando la dificultad de algunas tareas aumenta, esto, porque el estímulo es débil, o por un gran ruido ambiental (Stein y Stanford, 2008). La mayoría de las neuronas multisensoriales son capaces de sintetizar la información de diferentes modalidades sensoriales y son capaces de producir respuestas más grandes, incluso que aquellas neuronas que responden a estímulos unimodales de gran intensidad (superaditividad) (Stein y cols., 2011). Algunas veces las respuestas de las neuronas multisensoriales son más grandes que las que se predicen de la suma aritmética de una modalidad específica (Jiang, 2001). Además, las señales de diferentes modalidades sensoriales son relevantes en un mismo evento y son normalmente concordantes en espacio y tiempo (Stein y Stanford, 2008) (Figura 20). De esta manera la alineación espacio-temporal de estímulos multisensoriales (por ejemplo: visual-auditivo, visual-somatosensorial) producen una amplificación de las señales en el cerebro adulto. Dicha amplificación lleva a una alta probabilidad de detectar y reaccionar a un evento.



**Figura 20| Aumento multisensorial de una neurona de los colículos superiores.** Descripción del estímulo visual (V), auditivo (A) y visual-auditivo (VA), rastros de actividad, histograma periéstimulo, registro de la neurona colicular y gráfica de barras del cociente del número de eventos registrados en los colículos superiores durante la estimulación unimodal y bimodal: Observe que la suma aritmética del número de eventos/muestras en las condiciones unimodales es menor en comparación al valor que se

muestra para los resultados de la estimulación bimodal. Cabe señalar que los estímulos (V, A y VA) fueron periódicos. (Modificado de Stein y Stanford, 2008).

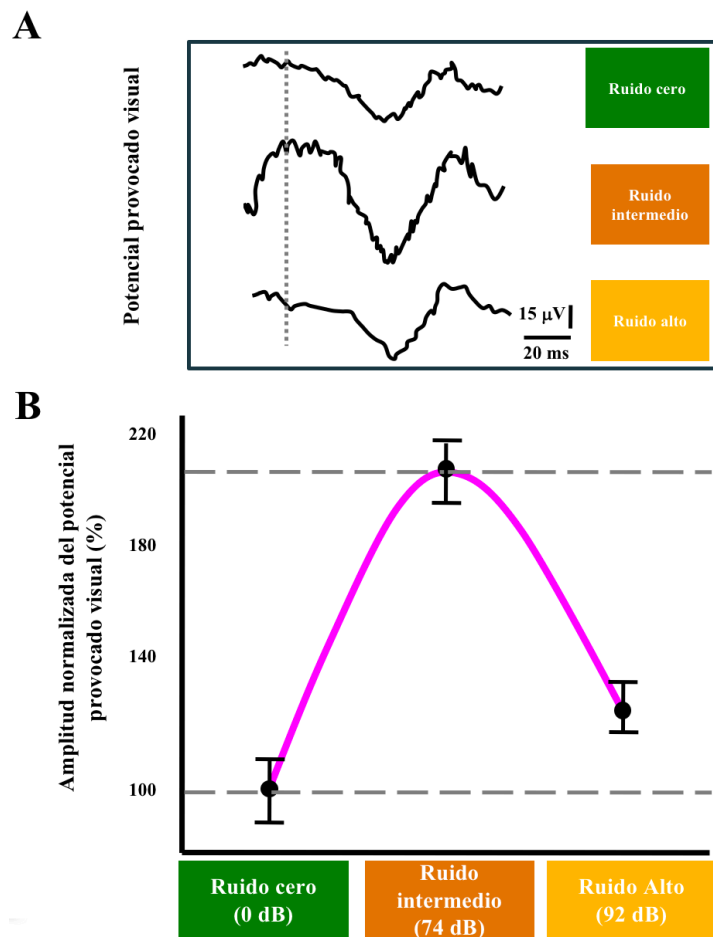
Asimismo, desde la detallada caracterización de las respuestas multisensoriales de las neuronas de los colículos superiores por Meredith y Stein (1997) diversos tipos de interacciones multisensoriales se han identificado. Klemen y Chambers (2011), describieron cinco clases de interacciones multisensoriales con base en los hallazgos de Stein y cols (2009), Wallace y cols (2004), Calvert y cols (2001), Moss y cols (2004), Harper (1979), Lugo y cols (2008), Manjarrez y cols (2007), etcétera. Las interacciones multisensoriales son: *1. Respuestas supramodales y multimodales, 2. Aditividad de las respuestas multisensoriales, 3. Respuestas de células únicas y poblaciones celulares basadas en modulación subumbral, 4. Aumento de las señales multisensoriales a través de la resonancia estocástica, 5. Coherencia de fase.*

En relación a la resonancia estocástica, Klemen y Chambers (2011) mencionan que es un fenómeno curioso donde una señal subumbral en un sistema no lineal (como el cerebro humano) puede ser aumentada si una cierta cantidad de ruido es adicionada a la señal (Collins y cols., 1996, Simonotto y cols., 1997; Manjarrez y cols., 2002; Manjarrez y cols., 2003; Moss y cols., 2004, Lugo y cols., 2008) de la señal ocurre cuando el nivel óptimo de ruido es alcanzado; no obstante, la adición de niveles altos de ruido conlleva a una pobre detección de la señal.

Algunas investigaciones se orientaron en función de la resonancia estocástica en las interacciones multisensoriales en humanos, demostrando su efecto facilitador en la detección de múltiples combinaciones de modalidades sensoriales. Estudios de integración audio-visual han mostrado que el nivel adecuado de ruido blanco auditivo puede facilitar la comprensión del habla (Ross y cols., 2007), así como la detección de estímulos visuales (Manjarrez y cols., 2007; Lugo y cols., 2008).

Sin embargo, fue hasta 2013, que en nuestro laboratorio se realizó la primera aproximación del efecto del ruido auditivo sobre los potenciales provocados visuales (PPVs, onda N50) registrados en la superficie de los colículos superiores. Para ello, se

aplicaron diferentes intensidades de estimulación periódica visual (0 – 85 Lx) durante 6 condiciones de ruido auditivo (0 – 92 dB). Observamos un aumento significativo en la amplitud normalizada de los PPVs cuando adicionamos un nivel intermedio de ruido auditivo. Con esto, mostramos la primera evidencia del fenómeno de resonancia estocástica multisensorial en los colículos superiores apoyando la hipótesis de Manjarrez y cols., (2007). La cual menciona que presumiblemente el efecto *benéfico* del ruido auditivo en la detección de estímulos luminosos débiles ocurre en estructuras que se encargan de la integración multisensorial, como lo son los colículos superiores (Figura 21).



**Figura 21 | Efectos del ruido auditivo en la amplitud de los potenciales provocados visuales de los colículos superiores.** **A.** Promedio de potenciales provocados visuales registrados en tres condiciones de ruido auditivo. **B.** Amplitud normalizada versus el nivel de ruido. Nótese el aumento de la amplitud normalizada cuando se adiciona un nivel

intermedio de ruido auditivo, lo cual sugiere que hay un efecto *facilitador* del ruido produciendo un aumento significativo de las respuestas visuales.

---

---

## CAPÍTULO 3

### MATERIAL Y MÉTODOS

---

---

#### **Procedimientos generales**

Realizamos experimentos en 14 gatos adultos sin distinción de sexo (2.5 Kg. – 5 Kg. de peso) provistos por el bioterio Claude Bernard de nuestra casa de estudios. Todos los procedimientos experimentales se apegaron a lineamientos del Comité Directivo de la Comunidad Europea del 24 de noviembre de 1986 (86/609/EEC), de la Guía de los Institutos Nacionales de Salud para el cuidado y uso de animales de laboratorio (85-23, revisada en 1985) y por la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). Todos los protocolos fueron aceptados por el comité de ética de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (CICUAL-Proyecto-00489).

Los animales se anestesiaron intraperitonealmente con pentobarbital sódico (1.5ml/5kg de peso del animal). Para mantener un adecuado nivel de anestesia, administramos dosis del fármaco cada 60-90 min. Enseguida, verificamos el estado de anestesia mediante la auscultación de la dilatación pupilar, reflejo palpebral, reflejos a estímulos dolorosos y estado de relajación del animal.

Posteriormente, se realizó una traqueotomía para la ventilación del animal. Enseguida, la arteria carótida se disecó y se le insertó un catéter que se conectó a un transductor de presión arterial para su monitoreo durante el experimento (la presión arterial

se mantuvo por arriba de los 80 mmHg). Luego se disecó y canuló la vena radial para la administración de fármacos y fluidos.

A continuación, el animal se colocó en un aparato esterotáxico (Narishige, Scientist Instrument Lab. SN-2N). Posteriormente, se realizó una craneotomía ( $\sim 5 \text{ cm}^2$ ) para exponer la superficie de la corteza cerebral. Una vez expuesto el tejido cerebral, se procedió a retirar la duramadre en íntima unión con el tejido adyacente. Enseguida, se realizó una retracción de la corteza cerebral para exponer los colículos superiores para su posterior registro electrofisiológico. También, construimos una cámara con acrílico dental alrededor de la apertura del hueso del cráneo. Luego, mantuvimos lleno dicho espacio con aceite mineral. Además, empleamos una lámpara de luz roja y una almohadilla caliente para mantener la temperatura de los animales alrededor de  $37^\circ\text{C}$ . Al término del experimento, se realizó la eutanasia de los gatos con sobredosis de pentobarbital sódico.

## **Estimulación visual**

*Para el registro de los potenciales provocados visuales intracoliculares y unitarios y/o multiunitarios*

La estimulación visual binocular permitió el registro de los potenciales provocados visuales en los colículos superiores. La estimulación consistió de estímulos luminosos con un pulso de duración de 5 ms a 1 Hz de frecuencia, de 0 a 85 Lx, los cuales aplicamos mediante un par de LEDs de luz blanca conectados a un estimulador Master-8 (AMPI, Jerusalem). Cabe señalar que, el estímulo de visual se ajustó para producir un PPV o PEM en los colículos superiores (izquierdo o derecho) del  $\sim 35\%$  con respecto al máximo PPV (100%) que registramos (Figura 22). Obtuvimos registros de los PPVs con el sistema de microelectrodos de 5 canales (MiniMatrix, Versión *LFP-filter*, Thomas Recording, GmbH, Giessen, Germany) referenciado a un electrodo colocado en los músculos de la cabeza. Empleamos electrodos de cuazo/platino-tungsteno de 5-7  $\text{M}\Omega$  de impedancia (fabricados con materiales de Thomas Recording, GmbH, Giessen, Germany). Las señales se amplificaron (ganancia de 100 ) y se filtraron en línea para observar la actividad

extracelular de campo. Registramos los PPVs en la región medial de los CS donde el promedio de los PPVs exhibió su máxima amplitud. Dichos PPVs se obtuvieron con amplificadores Astromed-Grass p511 con un filtro pasabandas de 0.05-30 Hz. Posteriormente, se digitalizaron con el sistema Digidata 1440A (Molecular Devices, Axon Instruments) con una frecuencia de muestreo de 50 kHz.

#### *Para el registro de la actividad multiunitaria*

Para el registro de la actividad unitaria o multiunitaria de neuronas de los CS empleamos el mismo sistema de microelectrodos de 5 canales en su versión *SUA-filter* (MiniMatrix, Versión *SUA-filter*, Thomas Recording, GmbH, Giessen, Germany) referenciado a un electrodo colocado en los músculos de la cabeza. Empleamos electrodos de cuazo/platino-tungsteno de 5-7 M $\Omega$  de impedancia (fabricados con materiales de Thomas Recording, GmbH, Giessen, Germany). Las señales se amplificaron (ganancia de 100 o 1000) y se filtraron en línea (0.5 – 5 kHz) con el mismo sistema MiniMatrix. Posteriormente, digitalizamos la actividad unitaria o multiunitaria con el Sistema Digidata 1440A (Molecular Devices, Axon Instruments) con una frecuencia de muestreo de 250 kHz. Para evitar la pérdida de información, las señales no se filtraron fuera de línea. Cada una de las respuestas unitarias o multiunitarias de las neuronas de los CS exhibieron una forma de ráfaga al adicionar estímulos visuales binoculares y durante la estimulación ruidosa auditiva, táctil y auditiva-táctil.

### **Estimulación ruidosa auditiva y táctil**

Adicionamos 5 niveles de ruido auditivo (0 - 92 dB) a través de un par audifonos del Sistema NeuroScan Stim (v. 3.0) posicionados binauralmente en el canal auditivo. La intensidad de los estímulos auditivos se cuantificó por medio de un medidor de intensidad de sonido (RadioShack 33-2055). Por otra parte, aplicamos 5 niveles de ruido táctil a la piel glabra del cojinete central de la extremidad posterior (izquierda o derecha) (0 - 5 mN) de manera aleatoria a través de un estimulador-transductor mecánico tipo Chubbuck. Ambos ruidos se produjeron por medio de un generador de ruido analógico Wavetek 132

## **Protocolo de estimulación**

Para el registro de los PPVs intracoliculares y la actividad unitaria o multiunitaria, el protocolo de estimulación consistió de 32 muestras de estimulación visual durante el ruido auditivo (0, 56, 65, 74, 85 y 92 dB) y ruido táctil (0, 0.7, 1.6, 2.7, 3.8 y 5 mN). Aplicamos de manera continua cada nivel del ruido durante la estimulación visual. Además, adicionamos de manera aleatoria los seis niveles de ruido auditivo, ruido táctil y ruido auditivo-táctil, incluyendo intervalos de 20 s entre cada nivel de ruido, para evitar efectos de adaptación.

## **Análisis de datos**

Obtuvimos potenciales provocados visuales producidos por diferentes intensidades de estimulación visual para realizar curvas entrada-salida con el objetivo de determinar la intensidad de estimulación que nos produjera PPVs del ~35 % con respecto a la máxima amplitud de dichos potenciales (100%). La Figura 22B muestra una curva entrada-salida para la máxima amplitud de los PPVs versus la intensidad del estímulo de prueba. La línea vertical magenta indica la intensidad del estímulo que empleamos en los protocolos (29 Lx, aproximadamente).

Posteriormente, obtuvimos 32 PPVs en la condición control y por cada nivel de ruido, con los cuales determinamos la amplitud de la onda N50 de los PPVs (como la que observamos en los PPVs de superficie en mi trabajo de maestría, Figura 21A). El cálculo de la amplitud de la onda N50 fue de la línea basal (alrededor de 0  $\mu$ V) hasta la deflexión ocurrida ~50 ms después de la presentación del estímulo visual. Calculamos el área de la RSR de salida para todos los niveles de ruido, incluyendo el nivel de ruido cero. Con lo anterior, obtuvimos gráficas de la *amplitud del PPV* versus el *ruido de entrada*.

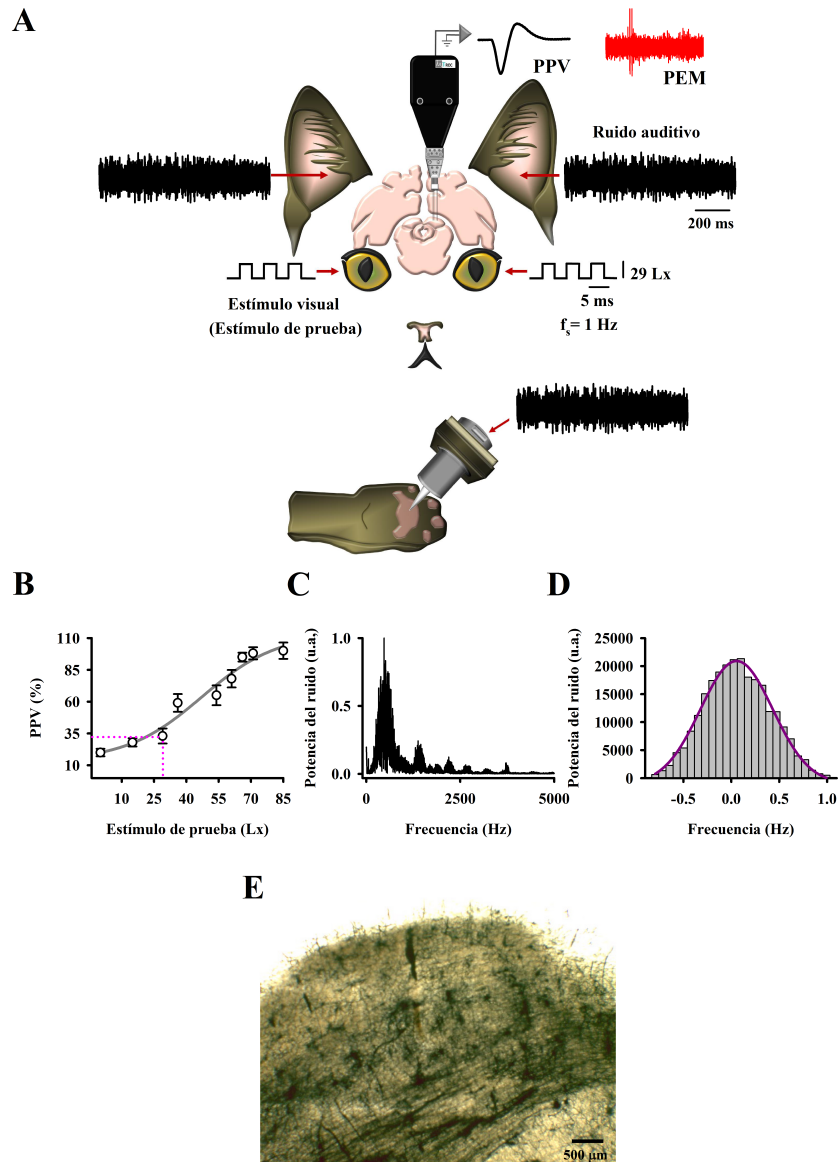
Además, obtuvimos potenciales extracelulares unitarios o multiunitarios, los cuales clasificamos a través del programa *WaveClus* de MatLab (Quian-Quiroga y cols., 2004) para obtener el número de eventos en la condición control y por cada nivel de ruido que adicionamos. Posteriormente, calculamos el cociente del número de eventos entre el número de muestras registradas de manera consistente a lo reportado por Stein y colaboradores (Stein y cols., 2008, 2011). De esta manera, construimos gráficas del *número de eventos/muestras* versus *nivel de ruido*.

### **Análisis estadístico**

Para demostrar alguna diferencia estadística en los PPVs o en la actividad unitaria o multunitaria en las diferentes intensidades de ruido auditivo, ruido táctil y ruido auditivo táctil, usamos *la amplitud de los PPVs* y *el número de eventos/muestras* para cada nivel de ruido (N0 = ruido nivel 0, N1 = ruido nivel 1, N2 = ruido nivel 2, N3 = ruido nivel 3, N4 = ruido nivel 4 y N5 = ruido nivel 5). Debido a que nuestros datos se distribuyeron normalmente (Prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov,  $P > 0.05$ ) y tuvieron homogeneidad en sus varianzas (Prueba de Levene,  $P > 0.05$ ); empleamos la prueba paramétrica ANOVA 1 de medidas repetidas, bajo la hipótesis nula que la variable dependiente *amplitud de los PPVs* y *número de eventos/muestras* fue la misma a través de los factores. Además, empleamos la prueba de Mauchly para verificar que la suposición de esfericidad no se violara. Enseguida, realizamos la prueba *post hoc* de Tukey bajo la hipótesis nula que las diferencias entre las condiciones N0 vs. N1, N0 vs. N2, N0 vs. N3, N0 vs. N4, N0 vs. N5 y N3 vs. N5, son cero. Los resultados se reportaron como significativos si  $P < 0.05$ . Finalmente, consideramos el valor de significancia a una cola.

### **Análisis histológico**

Realizamos el protocolo Golgi-Cox para el análisis histológico de los colículos superiores con el propósito de obtener imágenes de dicha estructura para su posterior reconstrucción gráfica. Para ello, se empleó un microscopio óptico (Leica Microsystems, objetivo de 1X, 10X y 40X) (Figura 22E).



**Figura 22| Esquema del arreglo experimental para la estimulación ruidosa auditiva y táctil y la estimulación periódica visual.** **A.** Esquema del arreglo experimental. **B.** Curva entrada-salida de la intensidad del estímulo visual versus la máxima amplitud del PPV. Las líneas punteadas magentas indican la intensidad del estímulo mecánico que produjo una respuesta cortical del ~35% con respecto a la máxima amplitud obtenida. **C, D.** Ejemplo del

espectro de potencia del ruido de entrada y su respectivo histograma. E. Micrografía de un corte coronal de colículo superior izquierdo.

---

---

## CAPÍTULO 3

### RESULTADOS

---

---

#### **Efecto del ruido auditivo, ruido táctil y ruido combinado auditivo-táctil en los potenciales provocados visuales intracolículos y en la actividad extracelular unitaria y multiunitaria de los colículos superiores**

Realizamos experimentos en un total de 14 gatos de los cuales obtuvimos resultados que demuestran que un nivel intermedio de ruido auditivo incrementa la amplitud promedio de los PPVs intracolículos producidos por estimulación visual periódica. La Figura 23A muestra registros promediados del estímulo de prueba, del ruido auditivo y los PPVs para tres condiciones de ruido: cero, (R0), intermedio (RI) y alto (RA). Las gráficas del panel inferior de la Figura 23A muestra los frecuenciogramas de los PPVs ilustrados en la parte superior.

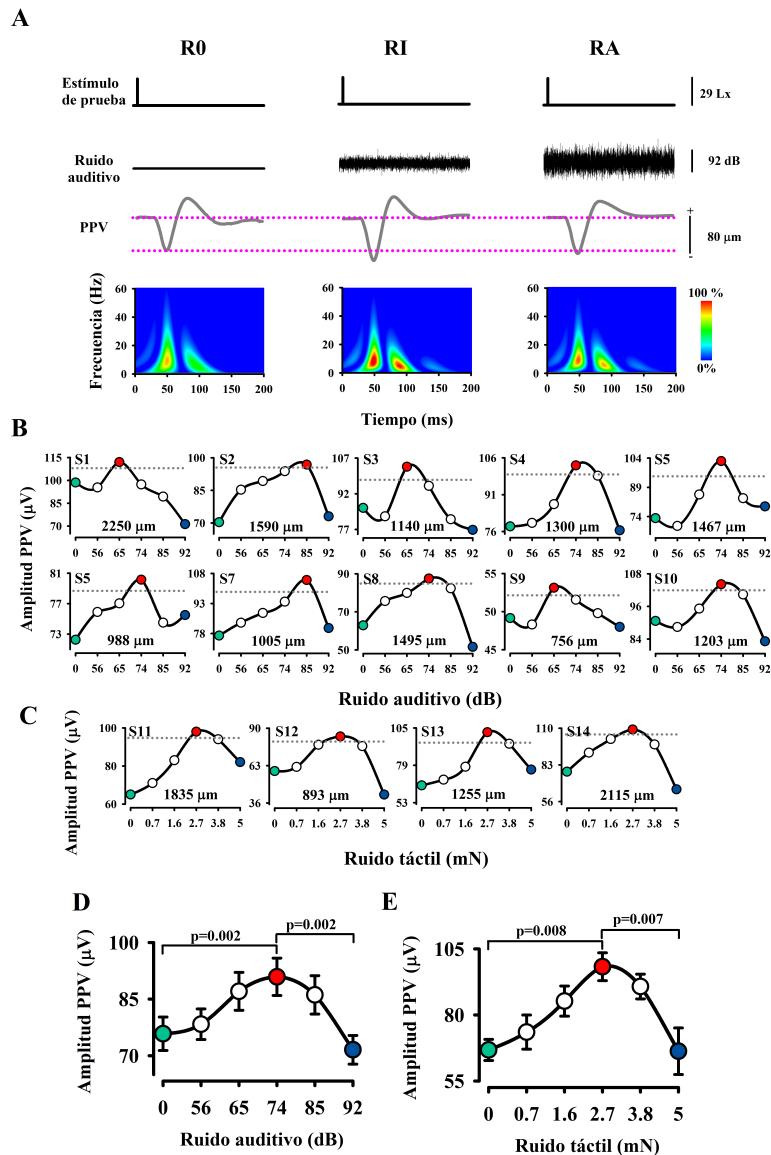
Calculamos la amplitud de la onda N50 de los PPVs para cada nivel de ruido auditivo que aplicamos (n= 10 gatos, n=1920 PPVs promediados, N0=  $75.8 \pm 4.4$ , N1=  $78.3 \pm 4.05$ , N2=  $87.04 \pm 5.1$ , N3=  $90.89 \pm 4.9$ , N4=  $86.1 \pm 5.88$ , N5=  $71.56 \pm 3.8 \mu\text{V}$ , media  $\pm$  error estándar). La Figura 23B ilustra los resultados de 10 sujetos, en los cuales observamos que las gráficas de la amplitud del PPV versus el ruido auditivo exhiben una forma de U-invertida. Note que hay un nivel intermedio de ruido auditivo entre 56 y 92 dB

que produce un aumento la amplitud de los PPVs los cuales registramos en diferentes profundidades (2250, 1590, 1140, 1300, 1467, 988, 1005, 1495, 756 y 1203  $\mu\text{m}$ ). Asimismo, calculamos la amplitud de la onda N50 de los PVSs para cada nivel de ruido táctil que aplicamos (n= 4 gatos, n=768 PPVs promediados, N0=  $66.75 \pm 4.01$ , N1=  $73.5 \pm 6.46$ , N2=  $85.25 \pm 5.7$ , N3=  $98.2 \pm 5.26$ , N4=  $90.7 \pm 4.67$ , N5=  $66.7 \pm 8.8$ , media  $\pm$  error estándar). La Figura 23C ilustra los resultados de 4 sujetos, en los cuales observamos que las gráficas de la amplitud del PPV versus el ruido auditivo exhiben una forma de U-invertida. Note que hay un nivel intermedio de ruido táctil entre 0.7 y 5 mN que produce un aumento la amplitud de los PPVs registrados en diferentes profundidades (1835, 893, 1255, 2115  $\mu\text{m}$ ).

Para examinar la significancia estadística de la amplitud de los PPVs entre los seis niveles de ruido auditivo y ruido táctil en una muestra de 10 sujetos y 4 sujetos respectivamente, realizamos dos pruebas ANOVA 1 de medidas repetidas para los seis niveles de ruido auditivo y los seis niveles de ruido táctil. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las seis condiciones de ruido auditivo aplicado a los PPVs (F [5,1914] = 46.73, P = 0.0007). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre N0 vs. N2 (P = 0.003), N0 vs. N3 (P = 0.002), N0 vs. N4 (P = 0.02) y N3 vs. N5 (P = 0.001), pero no así entre N0 vs. N1 (P = 0.22), y N0 vs. N5 (P = 0.2) (ver Figura 23D y Tabla 3). Por otra parte, los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las seis condiciones de ruido táctil aplicado a los PPVs (F [5,762] = 14.9, P = 0.005). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre, N0 vs. N3 (P = 0.008), N0 vs. N4 (P = 0.05) y N3 vs. N5 (P = 0.007), pero no así entre N0 vs. N1 (P = 0.48), N0 vs. N2 (P = 0.14), y N0 vs. N5 (P = 0.5) (ver Figura 23E y Tabla 3).

Estos resultados demuestran que la adición de ruido auditivo y ruido táctil produce una forma de U-invertida en la amplitud de PPVs de los colículos superiores. Lo cual, demuestra la función *falicitadora* del ruido en la actividad poblacional de las neuronas

multisensoriales, presuntamente la adición de señales estocásticas multisensoriales externas impacta en el ambiente ruidoso interno de las neuronas coliculares.



**Figura 23| Efecto del ruido auditivo y del ruido táctil en la amplitud de los PPVs intracolicales.** A. Promedio de los PPVs para los diez sujetos durante tres niveles de ruido auditivo: cero (R0, 0 dB), intermedio (RI, 74 dB) y alto (RA, 92 dB). El estímulo de prueba de 29 Lx produjo PPVs con una amplitud del ~35% con respecto a la máxima amplitud registrada. Los mapas del panel inferior ilustran frecuenciogramas del efecto del

ruido auditivo en los PPVs ilustrados en el panel superior. **B.** Amplitud de los PPVs vs. Ruido auditivo ( $n=10$ ). **C.** Amplitud de los PPVs vs. Ruido táctil ( $n=4$ ). **D,E.** Gran promedio de la amplitud de los PPVs vs. Ruido auditivo y ruido táctil, respectivamente. Note la forma de U-invertida para todos los sujetos. Las líneas horizontales representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

**Tabla 3 | Datos del análisis estadístico paramétrico para la comparación de la amplitud de los PPVs en diferentes niveles de ruido auditivo y ruido táctil**

ANOVA 1					Prueba de Tukey					
PPV	n	F	gl	p	N0 vs. N1	N0 vs. N2	N0 vs. N3	N0 vs. N4	N0 vs. N5	N3 vs. N5
(Ruido auditivo)	10.00	46.70	1919.00	0.0007	0.22	0.003	0.002	0.02	0.2	0.002
PPV	n	F	gl	p	N0 vs. N1	N0 vs. N2	N0 vs. N3	N0 vs. N4	N0 vs. N5	N3 vs. N5
(Ruido táctil)	4.00	14.90	767.00	0.01	0.48	0.14	0.008	0.05	0.5	0.007

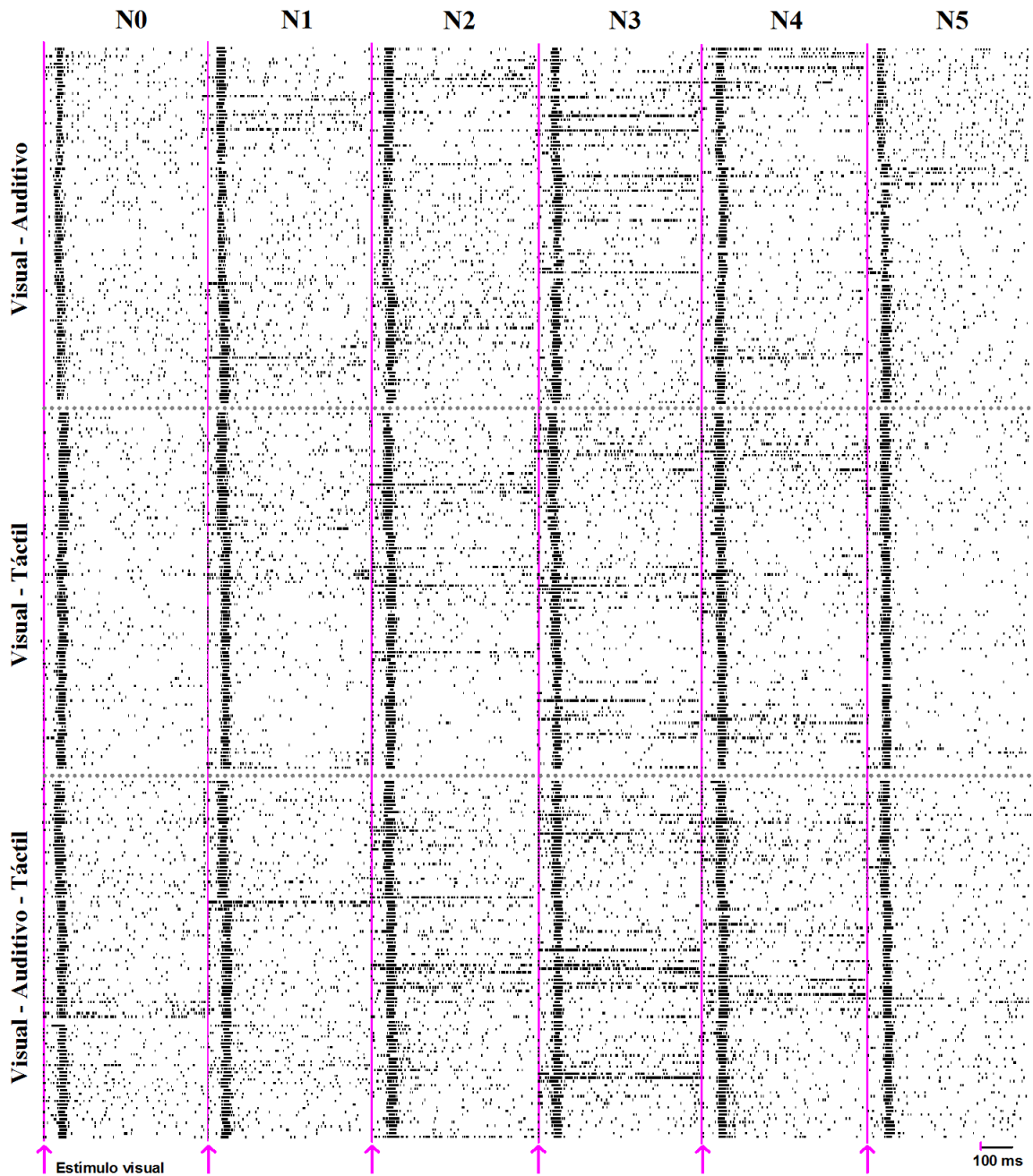
PPVs, potencial provocado visual, niveles de ruido: nivel cero (N0), nivel uno (N1), nivel dos (N2), nivel 3 (N3), nivel 4 (N4) y nivel 5 (N5).

### Actividad extracelular unitaria y multiunitaria de neuronas que responden a estímulos multisensoriales

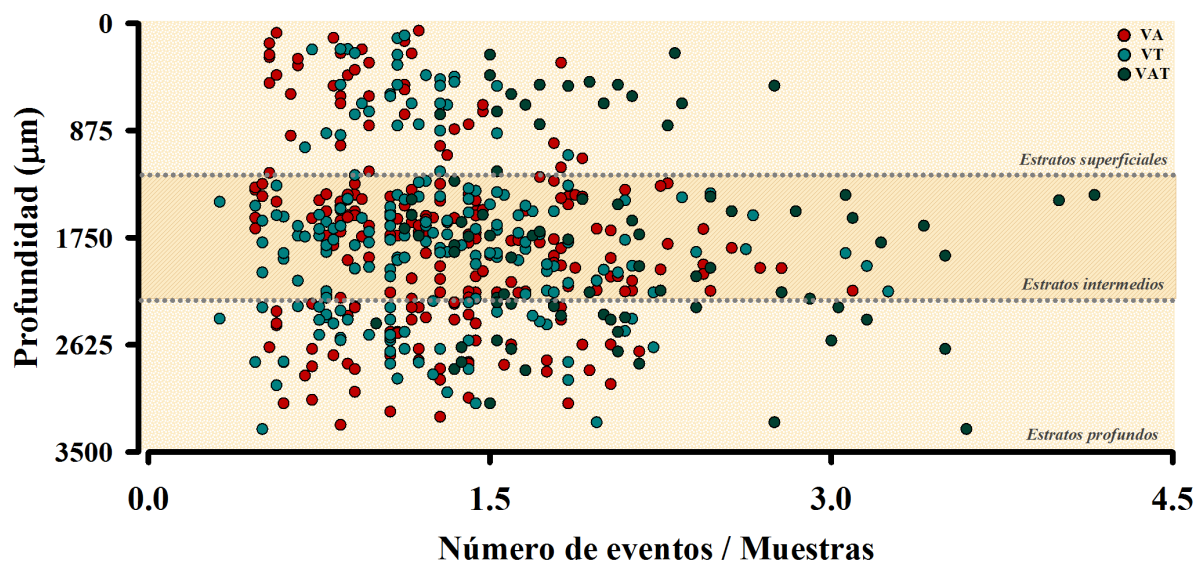
Por otra parte, registramos la actividad unitaria y multiunitaria de los colículos superiores en diferentes profundidades. La Figura 24 muestra los rastros de actividad eléctrica de un grupo de neuronas que respondieron a la estimulación visual periódica y al ruido auditivo, a la estimulación visual periódica y al ruido táctil y a la estimulación visual periódica y al ruido combinado auditivo-táctil, lo anterior lo hicimos para 6 niveles de ruido. Con esto calculamos el *número de eventos / muestras* para cada nivel de ruido auditivo que aplicamos. Analizamos un total del 509 neuronas las cuales clasificamos por su profundidad (*estratos superficiales: 0 – 1300  $\mu\text{m}$ , estratos intermedios: 1301 - 2200  $\mu\text{m}$  y estratos profundos: 2201 - 3300  $\mu\text{m}$ ) y por su tipo de respuesta (*visual-auditivo*), (*visual-táctil*) y (*visual-auditivo-táctil*). Nótese que hay un mayor número de neuronas multisensoriales en los estratos intermedios, lo cual es consistente con las observaciones de Meredith y Stein (1986) (ver Figura 25, Tabla 4).*

**Tabla 4 | Datos de la clasificación de las neuronas multisensoriales coliculares de acuerdo al sitio de registro y por su tipo de respuesta**

Neuronas Colículos superiores				
	Visual-Auditivo	Visual-Táctil	Visual-Auditivo-Táctil	Total
<i>Estratos superficiales</i>	45	37	19	101
<i>Estratos intermedios</i>	121	113	34	268
<i>Estratos profundos</i>	60	52	28	140
<b>Total</b>	<b>226</b>	<b>202</b>	<b>81</b>	<b>509</b>



**Figura 24| Rastros de actividad eléctrica de las neuronas multisensoriales de los colículos superiores.** Obsérvese la descarga de las neuronas multisensoriales para la condición visual-auditivo, visual-táctil y visual-auditivo-táctil. Se muestra un aumento de la descarga neuronal al adicionar tres modalidades sensoriales cuando se aplicó un nivel intermedio de ruido. Las líneas verticales color magenta en estímulo visual que se aplicó (29 Lx). Nótese un aumento en la descarga neuronal alrededor de 50 ms después del estímulo visual. Lo cual es consistente con los PPVs intracolículos que registramos.



**Figura 25| Distribución de las neuronas multisensoriales en los estratos superficiales, intermedios y profundos de los colículos superiores.** Gráfica del número de eventos/muestras versus la profundidad del registro de las neuronas multisensoriales coliculares. Obsérvese que el mayor número de neuronas multisensoriales se encuentra en los estratos intermedios en las diferentes condiciones de estimulación sensorial. Los círculos rojos corresponden a la respuesta máxima para la condición visual-auditiva (VA), los círculos turquesa para la condición visual-táctil (VT) y los círculos verdes corresponden a la condición (VAT). También, es posible apreciar que la máxima respuesta (cociente número de eventos/muestras) ocurre en la condición VAT (cuyos valores están cercanos a 4.5). Cada punto corresponde a una neurona registrada y su distribución en la gráfica es de acuerdo a su valor del cociente cociente número de eventos/muestras (n=509). En el eje de las ordenadas 0 μm corresponde a la superficie de los colículos superiores y 3500 μm corresponde los estratos profundos de los mismos.

## **Actividad extracelular unitaria de neuronas que responden a estímulos periódicos visuales y a estímulos ruidosos auditivos**

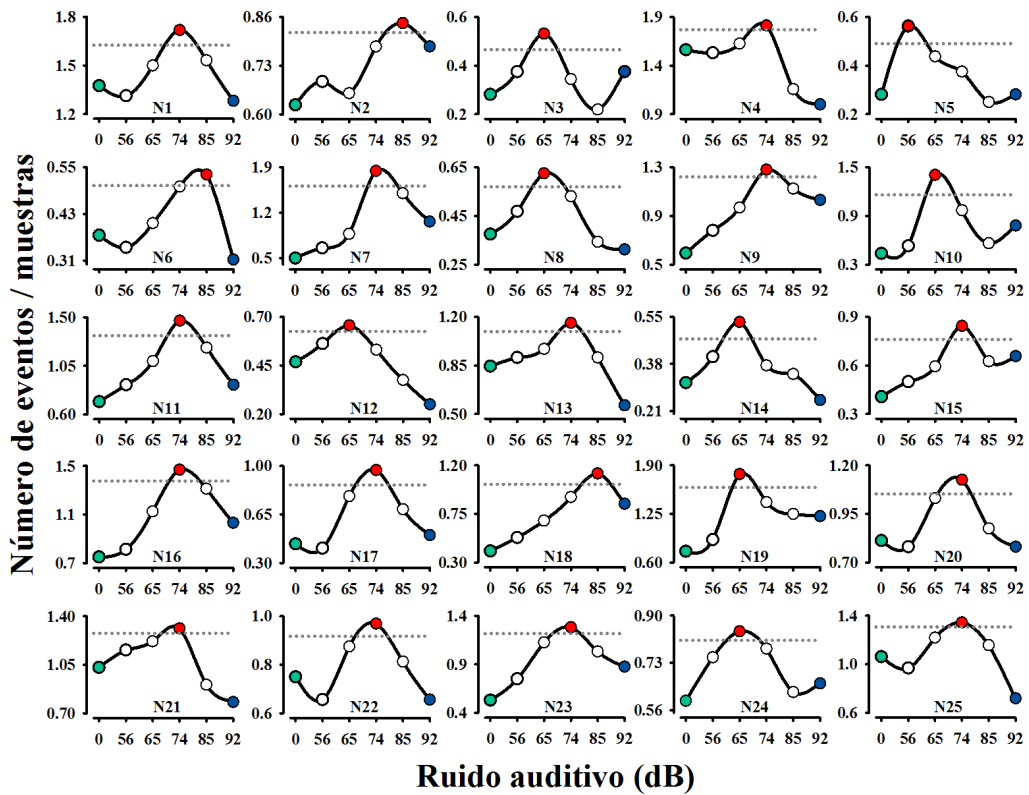
Como describimos previamente, clasificamos las neuronas de los colículos superiores de acuerdo a su profundidad. Para la condición visual- auditiva caracterizamos 226 neuronas: 45 en los *estratos superficiales*, 121 en los *estratos intermedios* y 60 en los *estratos profundos*.

La Figura 26A, 27A, 28A ilustra un ejemplo de 25 gráficas del número de eventos/muestras versus el ruido auditivo en las cuales observamos que éstas siguen una forma de U-invertida. Note que hay un nivel intermedio de ruido auditivo entre 56 y 92 dB que produce un aumento en el cociente número de eventos/muestras los cuales obtuvimos en diferentes profundidades (Figura 26C, 27C, 28C). Asimismo, calculamos el promedio del cociente número de eventos/muestras para cada nivel de ruido auditivo que aplicamos.

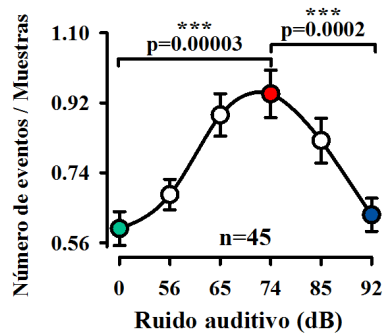
Los promedios del cociente número de eventos/muestras para los resultados que obtuvimos en los *estratos superficiales* son: N0=  $0.59 \pm 0.04$ , N1=  $0.68 \pm 0.039$ , N2=  $0.88 \pm 0.054$ , N3=  $0.94 \pm 0.061$ , N4=  $0.82 \pm 0.057$ , N5=  $0.63 \pm 0.042$ , media  $\pm$  error estándar) (Figura 26B). Para los *estratos intermedios*: N0=  $0.72 \pm 0.07$ , N1=  $0.9 \pm 0.081$ , N2=  $1.08 \pm 0.08$ , N3=  $1.29 \pm 0.1$ , N4=  $0.98 \pm 0.077$ , N5=  $0.73 \pm 0.064$ , media  $\pm$  error estándar) (Figura 27B). Para los *estratos profundos*: N0=  $0.65 \pm 0.04$ , N1=  $0.76 \pm 0.04$ , N2=  $0.96 \pm 0.05$ , N3=  $1.11 \pm 0.056$ , N4=  $0.89 \pm 0.046$ , N5=  $0.657 \pm 0.039$ , media  $\pm$  error estándar) (Figura 28B).

A

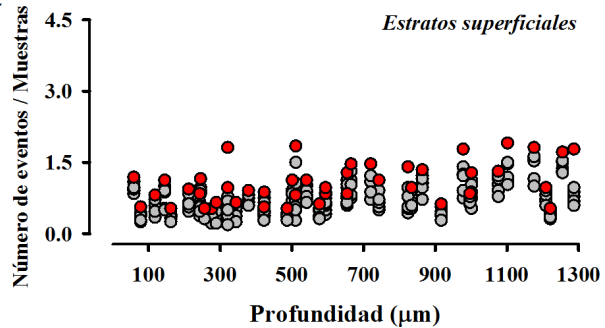
Estímulo visual + Ruido auditivo



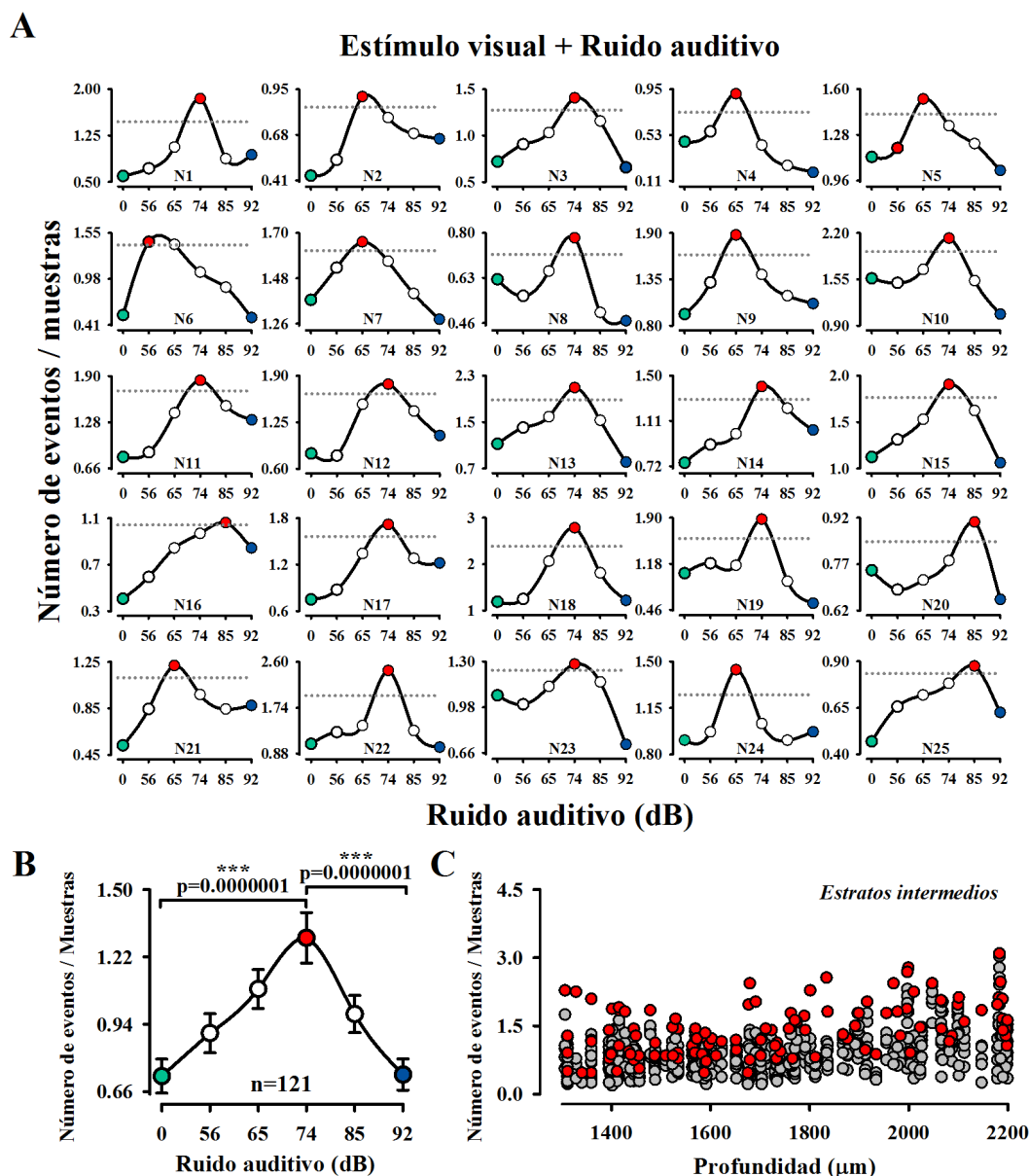
B



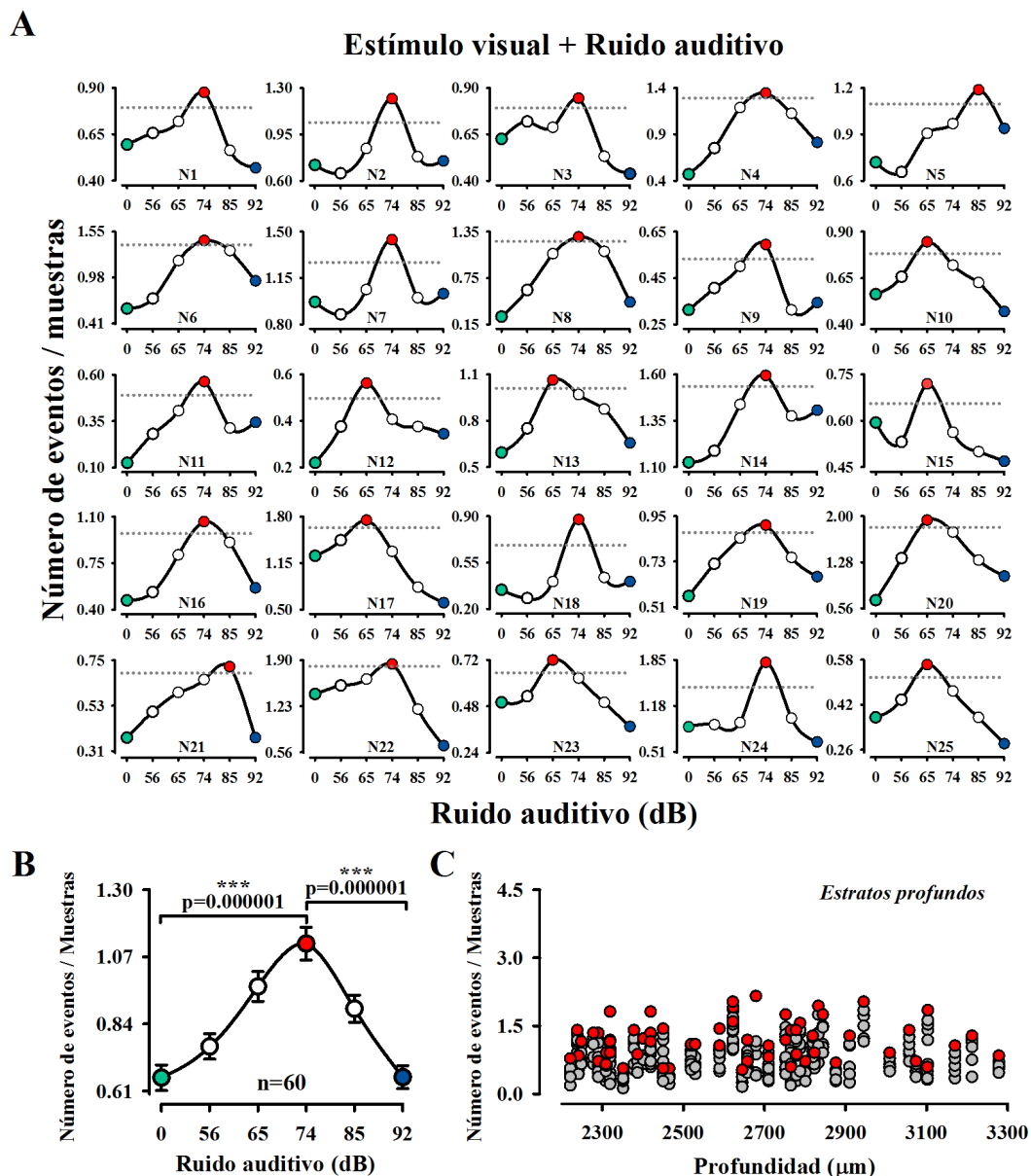
C



**Figura 26 | Efecto del ruido auditivo en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos superficiales de los colículos superiores.** **A.** Número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido auditivo. **B.** Gran promedio del número de eventos (media  $\pm$  error estándar). Note que se exhibe la forma de U-invertida. **C.** Gráfica del número de eventos/muestras versus la profundidad en la cual registramos las 45 neuronas coliculares. Los círculos grises y rojos representan los datos agrupados de todos los experimentos. El círculo rojo representa el nivel máximo del número de eventos/muestras. Las líneas horizontales en A representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.



**Figura 27 | Efecto del ruido auditivo en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos intermedios de los colículos superiores.** **A.** Número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido auditivo. **B.** Gran promedio del número de eventos (media  $\pm$  error estándar). Note que se exhibe la forma de U-invertida. **C.** Gráfica del número de eventos/muestras versus la profundidad en la cual registramos las 121 neuronas coliculares. Los círculos grises y rojos representan los datos agrupados de todos los experimentos. El círculo rojo representa el nivel máximo del número de eventos/muestras. Las líneas horizontales en A representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.



**Figura 28 | Efecto del ruido auditivo en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos profundos de los colículos superiores.** **A.** Número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido auditivo. **B.** Gran promedio del número de eventos (media  $\pm$  error estándar). Note que se exhibe la forma de U-invertida. **C.** Gráfica del número de eventos/muestras versus la profundidad en la cual registramos las 60 neuronas coliculares. Los círculos grises y rojos representan los datos agrupados de todos los experimentos. El círculo rojo representa el nivel máximo del número de eventos/muestras. Las líneas horizontales en A representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

### **Actividad extracelular unitaria de neuronas que responden a estímulos periódicos visuales y a estímulos ruidosos táctiles**

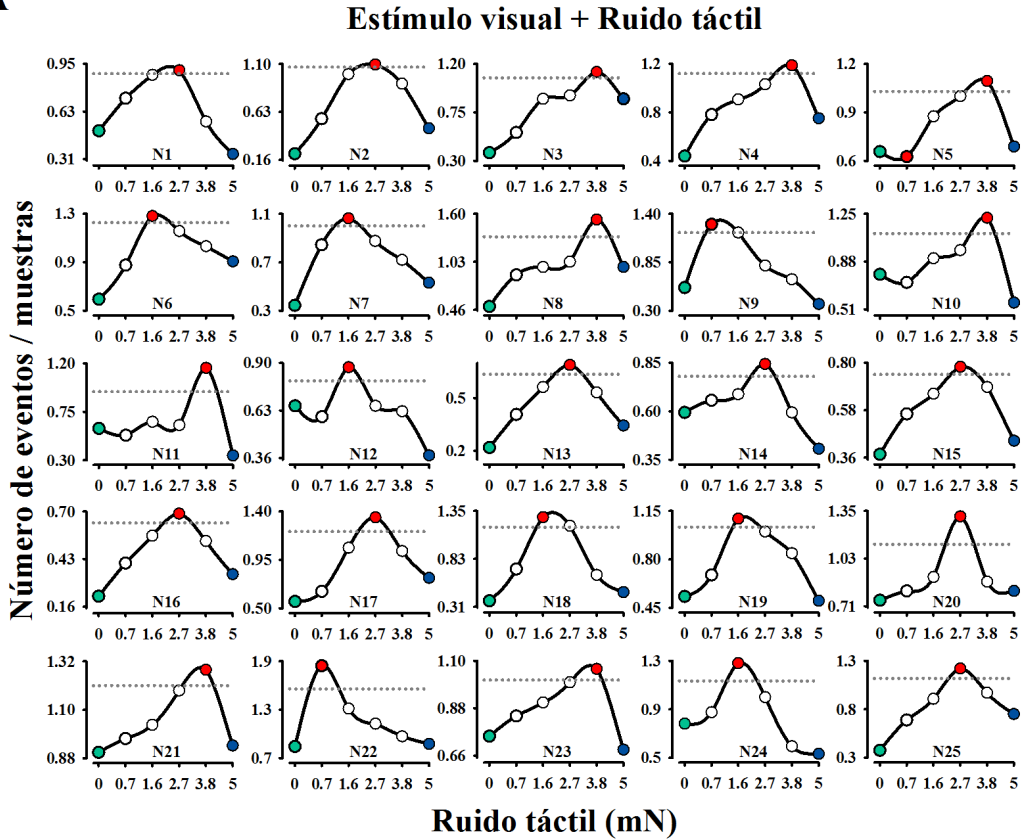
Como describimos previamente, clasificamos las neuronas de los colículos superiores de acuerdo a su profundidad. Para la condición visual- táctil caracterizamos 202 neuronas: 37 en los *estratos superficiales*, 113 en los *estratos intermedios* y 52 en los *estratos profundos*.

La Figura 29A, 30A, 31A ilustra un ejemplo de 25 gráficas del número de eventos/muestras versus el ruido táctil en las cuales observamos que éstas siguen una forma de U-invertida. Note que hay un nivel intermedio de ruido táctil entre 0.7 y 5 mN que produce un aumento en el cociente número de eventos/muestras los cuales obtuvimos en diferentes profundidades (Figura 29C, 30C, 31C). Asimismo, calculamos el promedio del cociente número de eventos/muestras para cada nivel de ruido táctil que aplicamos.

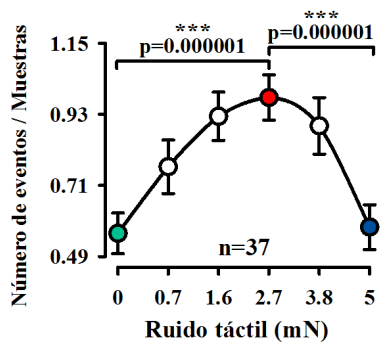
Los promedios del cociente número de eventos/muestras para los resultados que obtuvimos en los *estratos superficiales* son: N0=  $0.56 \pm 0.062$ , N1=  $0.76 \pm 0.087$ , N2=  $0.92 \pm 0.074$ , N3=  $0.98 \pm 0.07$ , N4=  $0.894 \pm 0.087$ , N5=  $0.58 \pm 0.069$ , media  $\pm$  error estándar) (Figura 29B). Para los *estratos intermedios*: N0=  $0.67 \pm 0.089$ , N1=  $0.8 \pm 0.092$ , N2=  $0.94 \pm 0.099$ , N3=  $1.244 \pm 0.079$ , N4=  $0.84 \pm 0.1$ , N5=  $0.62 \pm 0.08$ , media  $\pm$  error estándar) (Figura 30B). Para los *estratos profundos*: N0=  $0.66 \pm 0.03$ , N1=  $0.75 \pm 0.03$ , N2=  $0.88 \pm$

0.045, N3=  $1.1 \pm 0.088$ , N4=  $0.78 \pm 0.05$ , N5=  $0.63 \pm 0.04$ , media  $\pm$  error estándar) (Figura 31B).

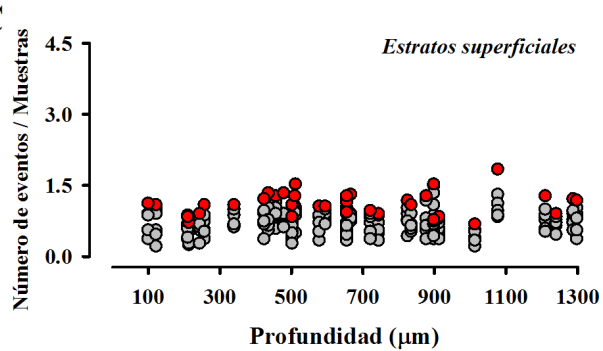
A



B

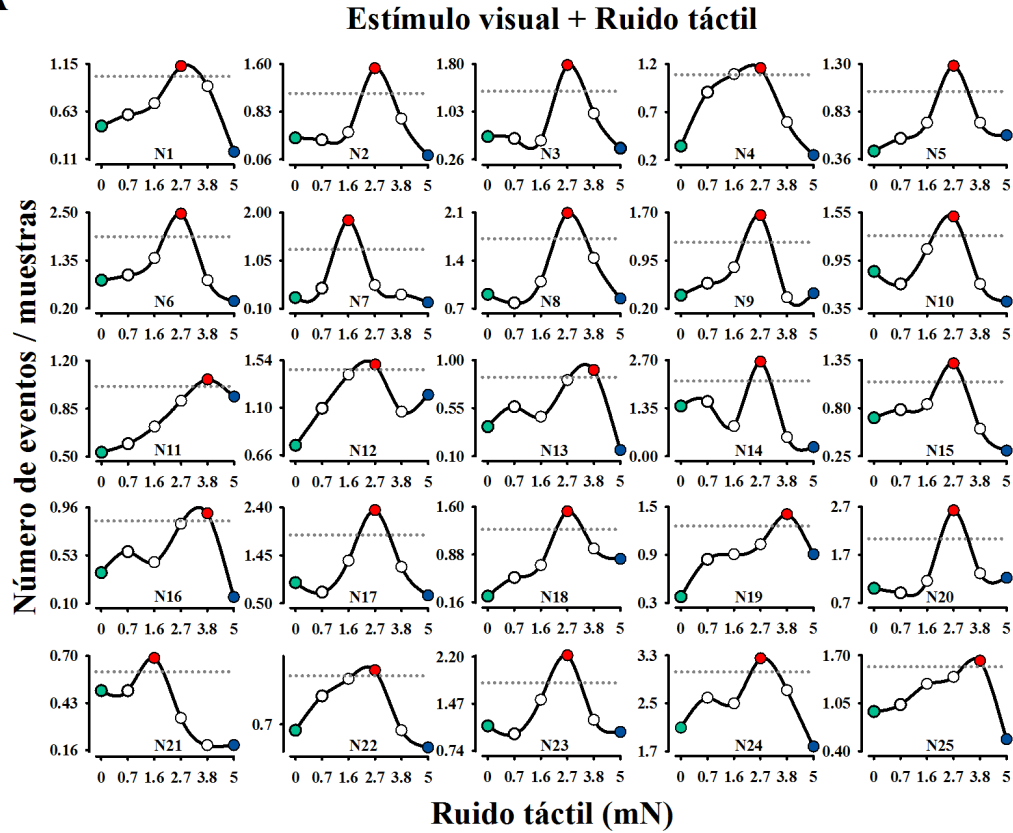


C

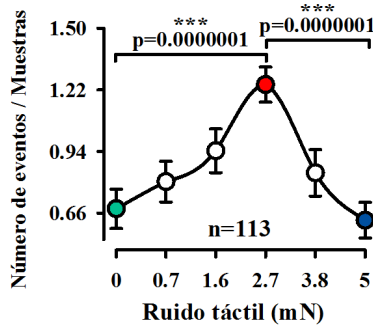


**Figura 29 | Efecto del ruido táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos superficiales de los colículos superiores.** A. Número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido táctil. B. Gran promedio del número de eventos (media  $\pm$  error estándar). Note que se exhibe la forma de U-invertida. C. Gráfica del número de eventos/muestras versus la profundidad en la cual registramos las 37 neuronas coliculares. Los círculos grises y rojos representan los datos agrupados de todos los experimentos. El círculo rojo representa el nivel máximo del número de eventos/muestras. Las líneas horizontales en A representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

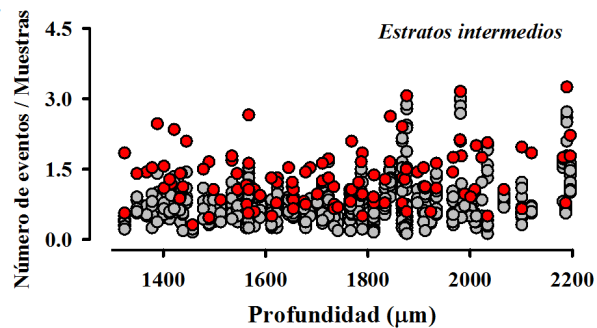
A



B

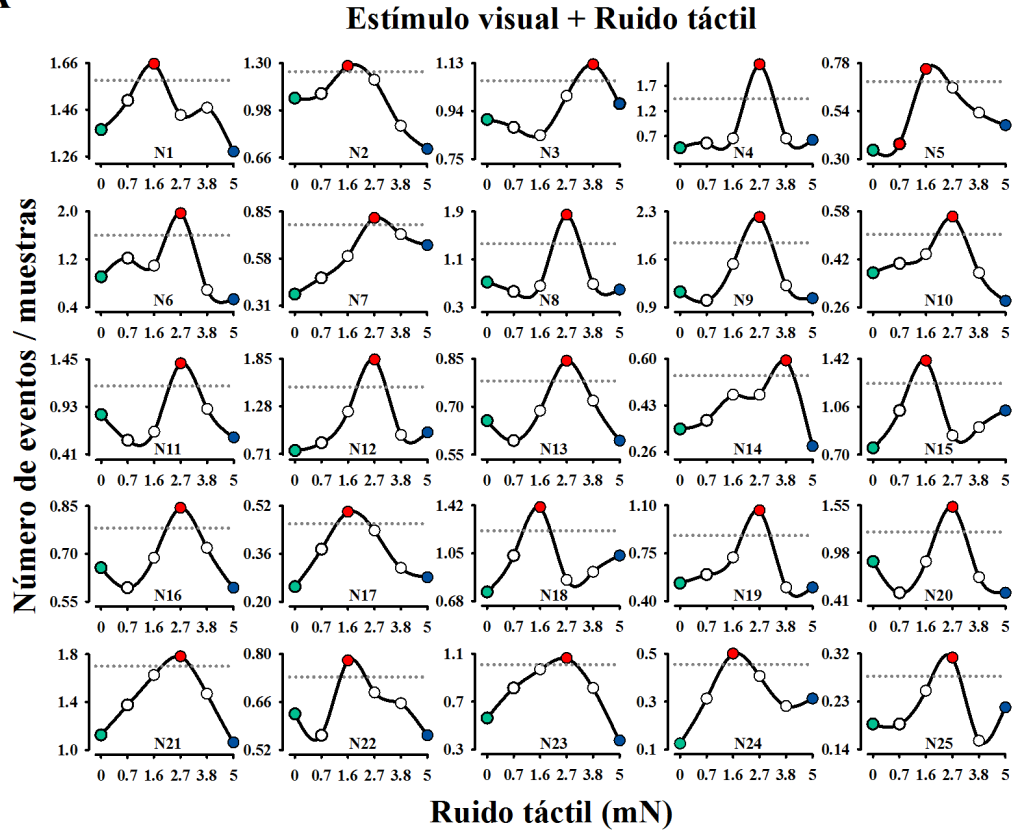


C

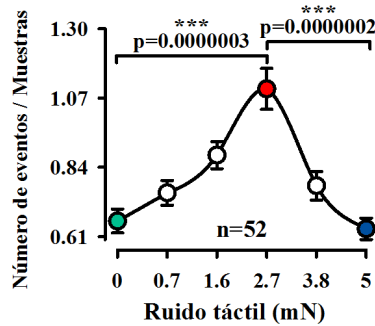


**Figura 30 | Efecto del ruido táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos intermedios de los colículos superiores.** A. Número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido táctil. B. Gran promedio del número de eventos (media  $\pm$  error estándar). Note que se exhibe la forma de U-invertida. C. Gráfica del número de eventos/muestras versus la profundidad en la cual registramos las 113 neuronas coliculares. Los círculos grises y rojos representan los datos agrupados de todos los experimentos. El círculo rojo representa el nivel máximo del número de eventos/muestras. Las líneas horizontales en A representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

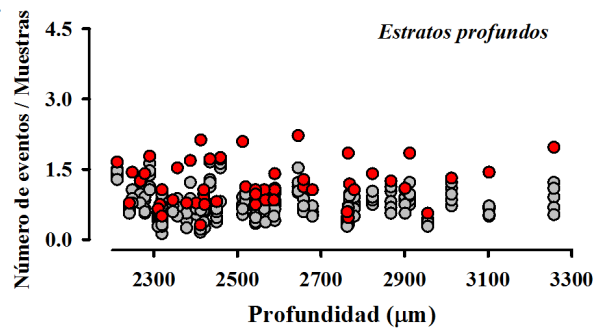
A



B



C



**Figura 31 | Efecto del ruido táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos profundos de los colículos superiores.** A. Número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido táctil. B. Gran promedio del número de eventos (media  $\pm$  error estándar). Note que se exhibe la forma de U-invertida. C. Gráfica del número de eventos/muestras versus la profundidad en la cual registramos las 52 neuronas coliculares. Los círculos grises y rojos representan los datos agrupados de todos los experimentos. El círculo rojo representa el nivel máximo del número de eventos/muestras. Las líneas horizontales en A representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

## **Actividad extracelular unitaria de neuronas que responden a estímulos periódicos visuales y a estímulos ruidosos auditivos-táctiles**

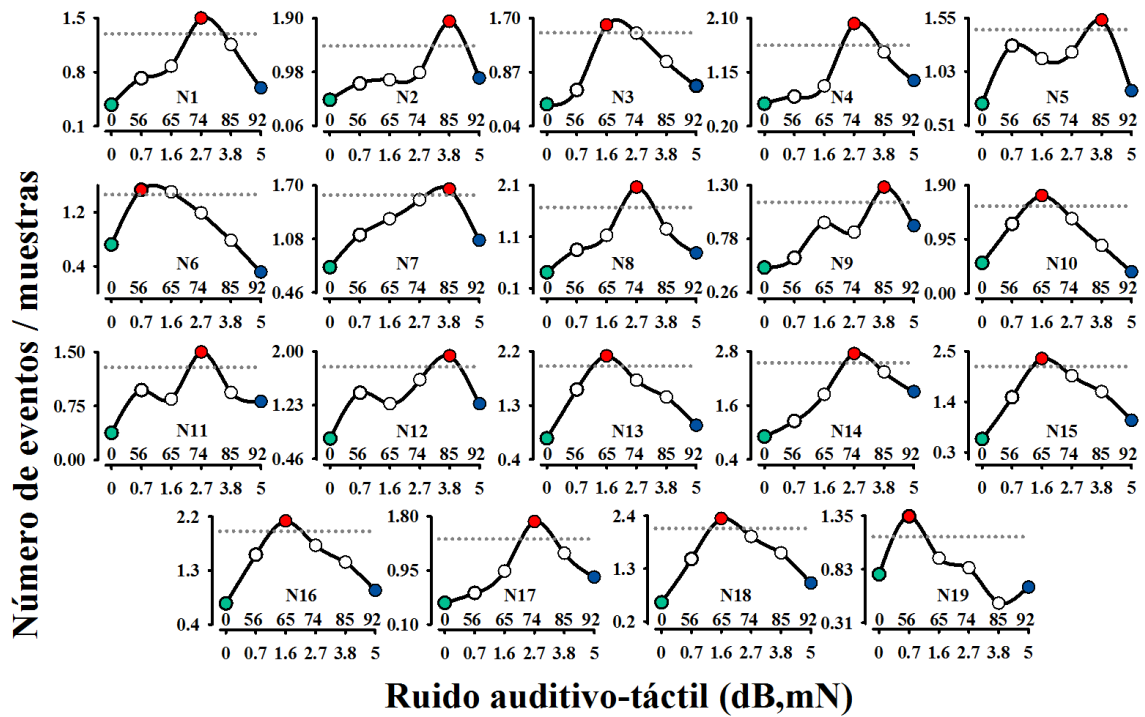
Como describimos previamente, clasificamos las neuronas de los colículos superiores de acuerdo a su profundidad. Para la condición visual- auditiva-táctil caracterizamos 81 neuronas: 19 en los *estratos superficiales*, 34 en los *estratos intermedios* y 28 en los *estratos profundos*.

La Figura 32A, 33A, 34A ilustra un ejemplo de 19 gráficas del número de eventos/muestras versus el ruido táctil en las cuales observamos que éstas siguen una forma de U-invertida. Note que hay un nivel intermedio de ruido auditivo-táctil entre 56 y 92 dB y 0.7 y 5 mN, respectivamente, que produce un aumento en el cociente número de eventos/muestras los cuales obtuvimos en diferentes profundidades (Figura 32C, 33C, 34C). Asimismo, calculamos el promedio del cociente número de eventos/muestras para cada nivel de ruido auditivo-táctil que aplicamos.

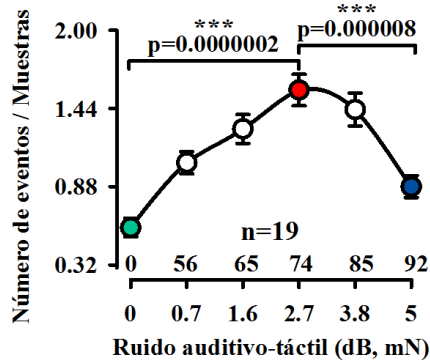
Los promedios del cociente número de eventos/muestras para los resultados que obtuvimos en los *estratos superficiales* son: N0=  $0.58 \pm 0.07$ , N1=  $1.05 \pm 0.079$ , N2=  $1.29 \pm 0.1$ , N3=  $1.57 \pm 0.11$ , N4=  $1.43 \pm 0.12$ , N5=  $0.88 \pm 0.078$ , media  $\pm$  error estándar) (Figura 32B). Para los *estratos intermedios*: N0=  $0.68 \pm 0.07$ , N1=  $1.13 \pm 0.12$ , N2=  $1.48 \pm 0.13$ , N3=  $1.92 \pm 0.15$ , N4=  $1.46 \pm 0.17$ , N5=  $0.88 \pm 0.1$ , media  $\pm$  error estándar) (Figura 33B). Para los *estratos profundos*: N0=  $0.58 \pm 0.04$ , N1=  $1.29 \pm 0.07$ , N2=  $1.53 \pm 0.13$ , N3=  $1.73 \pm 0.14$ , N4=  $1.3 \pm 0.14$ , N5=  $1.01 \pm 0.1$ , media  $\pm$  error estándar) (Figura 34B).

A

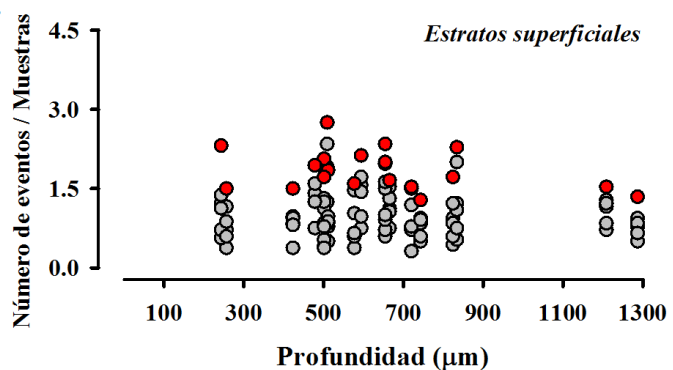
**Estímulo visual + Ruido auditivo-táctil**



B

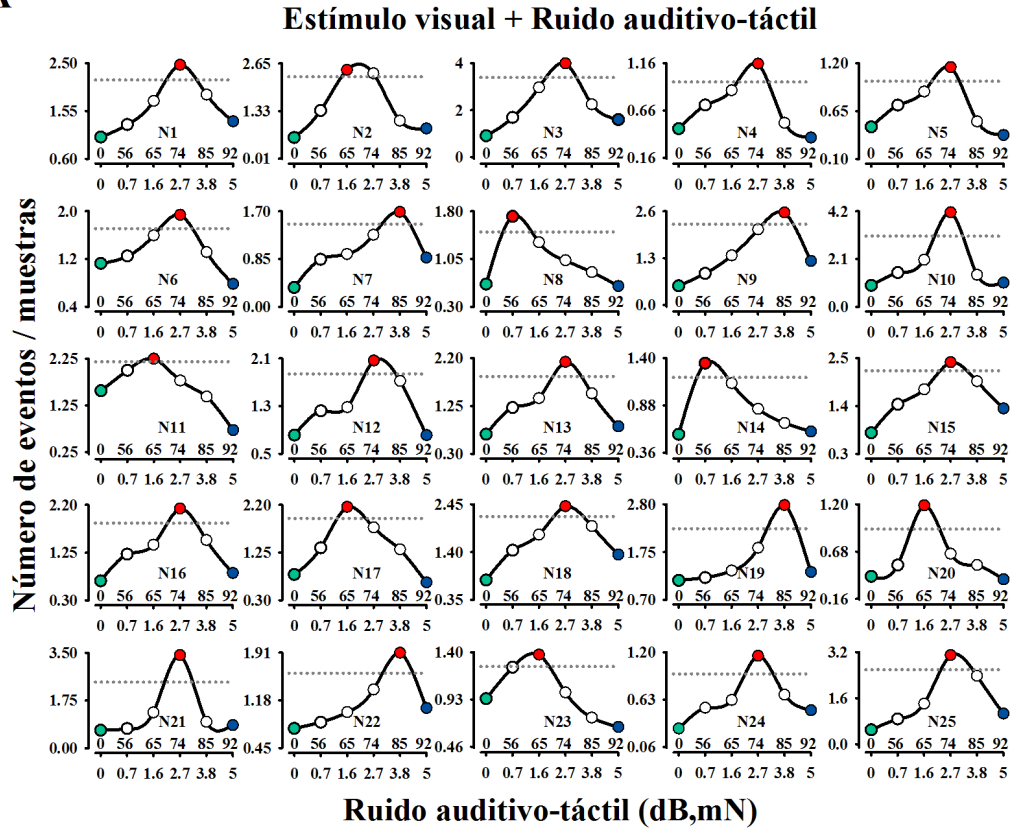


C

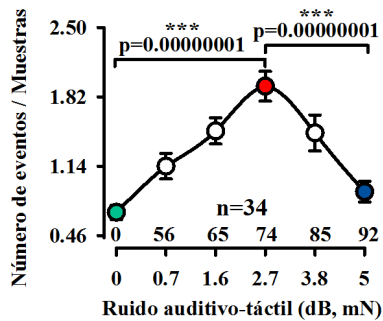


**Figura 32 | Efecto del ruido táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos superficiales de los colículos superiores.** A. Número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido combinado auditivo-táctil. B. Gran promedio del número de eventos (media  $\pm$  error estándar). Note que se exhibe la forma de U-invertida. C. Gráfica del número de eventos/muestras versus la profundidad en la cual registramos las 19 neuronas coliculares. Los círculos grises y rojos representan los datos agrupados de todos los experimentos. El círculo rojo representa el nivel máximo del número de eventos/muestras. Las líneas horizontales en A representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

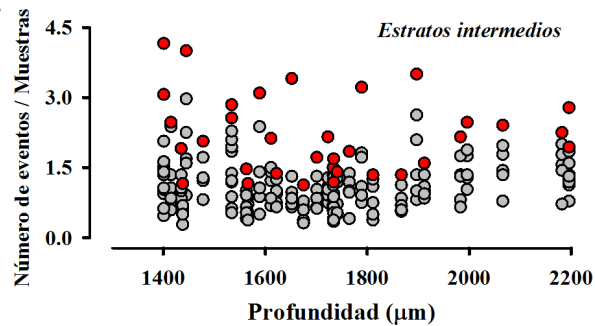
A



B

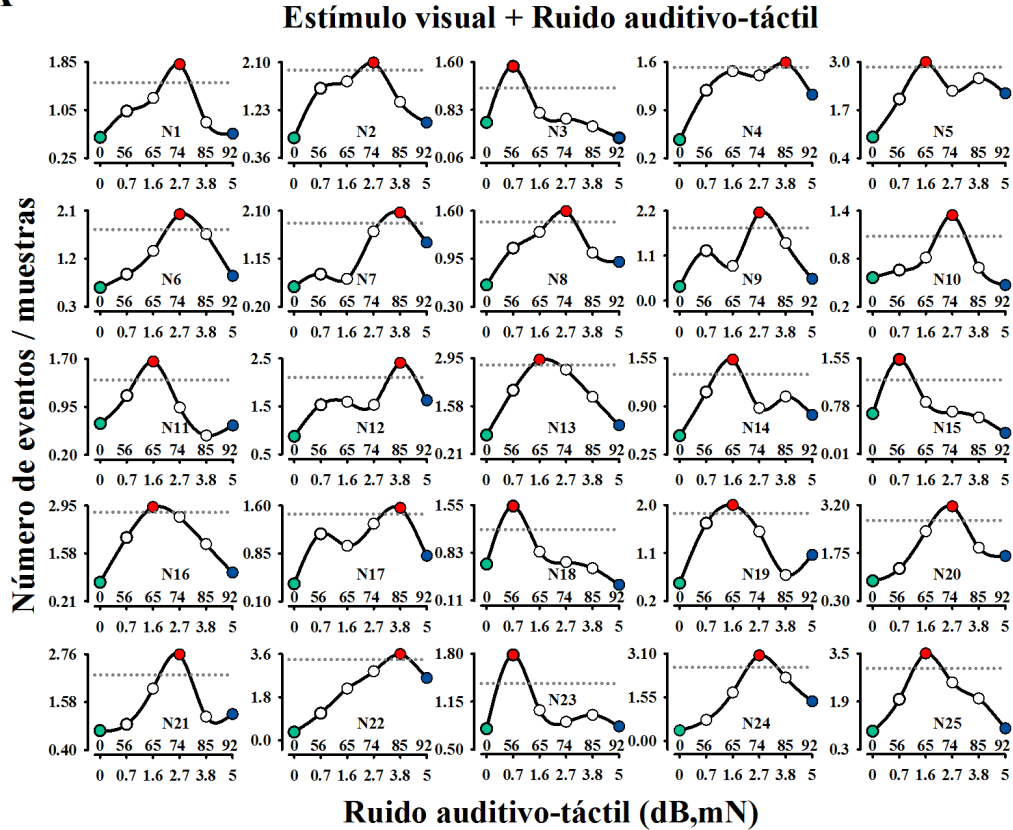


C

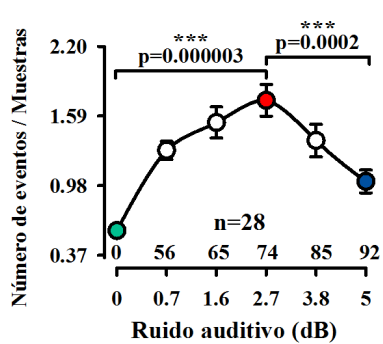


**Figura 33| Efecto del ruido táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos intermedios de los colículos superiores.** **A.** Número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido combinado auditivo-táctil. **B.** Gran promedio del número de eventos (media  $\pm$  error estándar). Note que se exhibe la forma de U-invertida. **C.** Gráfica del número de eventos/muestras versus la profundidad en la cual registramos las 34 neuronas coliculares. Los círculos grises y rojos representan los datos agrupados de todos los experimentos. El círculo rojo representa el nivel máximo del número de eventos/muestras. Las líneas horizontales en A representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

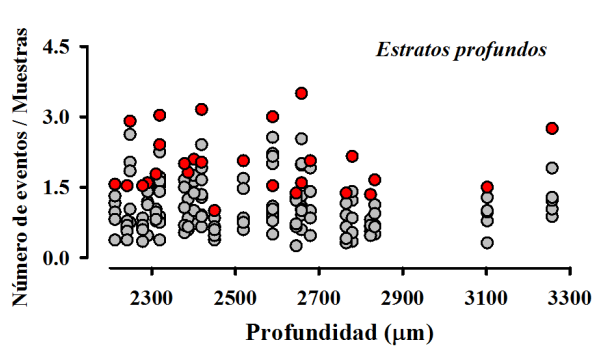
A



B



C

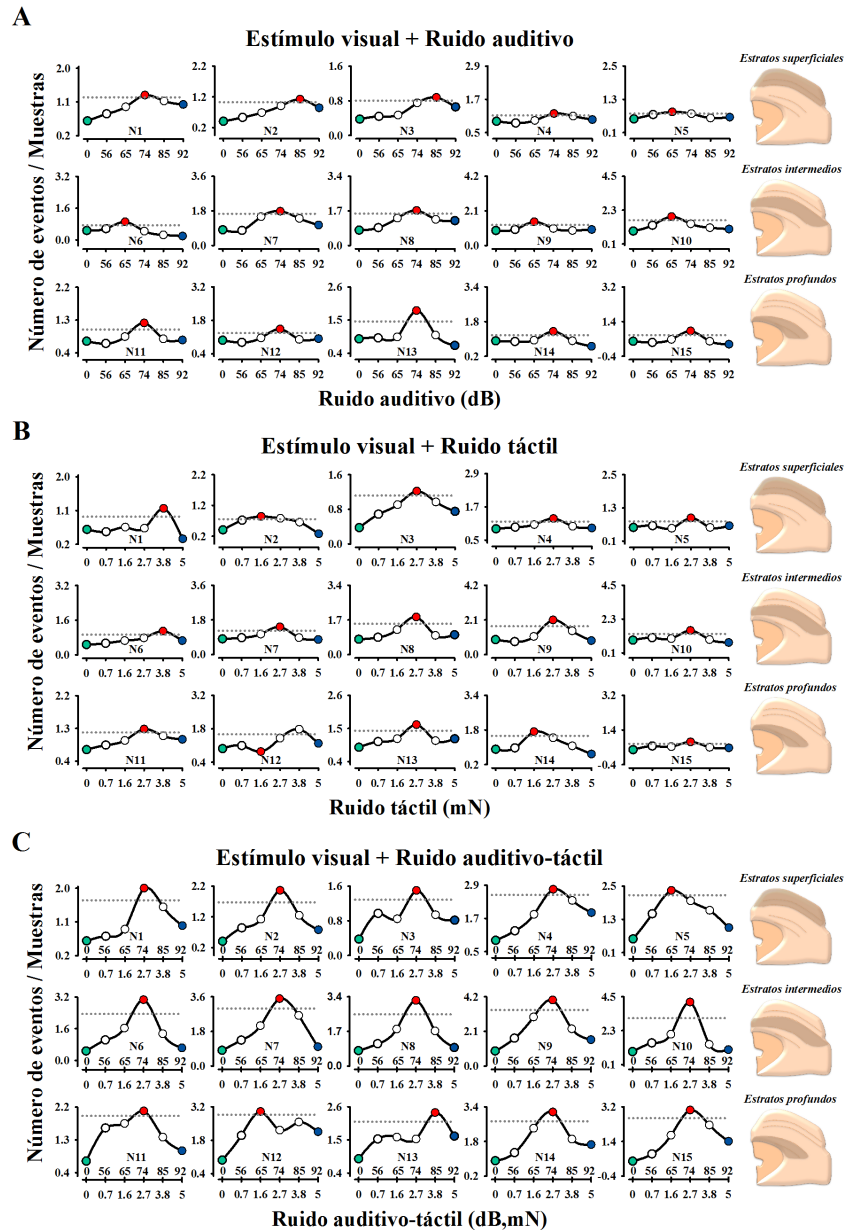


**Figura 34| Efecto del ruido táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas multisensoriales de los estratos intermedios de los colículos superiores.** **A.** Número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido combinado auditivo-táctil. **B.** Gran promedio del número de eventos (media  $\pm$  error estándar). Note que se exhibe la forma de U-invertida. **C.** Gráfica del número de eventos/muestras versus la profundidad en la cual registramos las 34 neuronas coliculares. Los círculos grises y rojos representan los datos agrupados de todos los experimentos. El círculo rojo representa el nivel máximo del número de eventos/muestras. Las líneas horizontales en A representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

Stein y Meredith (1993) dieron evidencia de que en los colículos superiores hay un aumento en el disparo de neuronas multisensoriales que responden a estímulos periódicos auditivos (A), visuales (V) y somatosensoriales (T) si estos coinciden en tiempo y espacio; incluso. Es decir, en la presentación de múltiples señales sensoriales de manera conjunta (VA, VT, VAT), la tasa de disparo es mucho mayor que el de las neuronas unimodales que responden a diferentes modalidades sensoriales de manera separada (V, A o T), proceso conocido como integración multisensorial. No obstante, es de nuestro interés conocer cómo las señales ruidosas auditivas, táctiles y auditivas-táctiles puede *perturbar* señales periódicas visuales.

Por ello, hicimos una comparación de 15 de 81 neuronas que respondieron a la estimulación periódica visual y a estímulos ruidosos auditivos, a la estimulación periódica visual y a estímulos ruidosos táctiles y a la estimulación periódica visual y a estímulos ruidosos auditivos-táctiles. Dichas neuronas las registramos en los diferentes estratos coliculares. La Figura 35 muestra la comparación de las neuronas multisensoriales donde es posible observar el aumento significativo del cociente del *número de eventos/muestras* cuando se adicionaron estímulos ruidosos auditivos y táctiles de manera conjunta. Por ejemplo, para la neurona 9 (N9) que registramos en los *estratos intermedios* el *número de eventos/muestras* donde se observa el mayor efecto del ruido auditivo fue de 1.43 (N2, 65 dB), el mayor efecto del ruido táctil fue de 2.09 (N3, 2.7 mN), mientras que para el ruido combinado auditivo-táctil fue de 4 (N3, 74 dB y 2,7 mN). Es posible notar que hay un mayor efecto del ruido combinado auditivo-táctil sobre las señales visuales en comparación al efecto que produce ruido auditivo o el ruido táctil sobre las señales visuales. Para determinar el grado de facilitación de las respuestas de las neuronas multisensoriales empleamos una medida denominada; aumento multisensorial (ME, por sus siglas en inglés), la cual nos da idea del grado de *sensibilidad* del sistema cuando existe una condición *control* (estimulación visual periódica únicamente) y otras condiciones experimentales (diferentes niveles de estimulación ruidosa). Para el ejemplo de las respuestas de la neurona 9 comparamos la condición V con respecto a la condición VA = 158.88 %, a la condición VT= 232.22 % y para la condición VAT = 444.4 %. Lo anterior

nos indica que existe mayor facilitación de las respuestas de las neuronas coliculares cuando se adicionan varios estímulos sensoriales.



**Figura 35 | Efecto del ruido combinado auditivo-táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas visuales que responden a ruido auditivo y ruido táctil. A.** Número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido auditivo. **B.** Número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido táctil. **C.** Número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido auditivo-táctil. Las gráficas muestran la forma de U-invertida. Además, hay un aumento significativo de los cocientes en la condición VAT con respecto a las condiciones VA y VT. Los números en las gráficas indican el número de

neurona que se comparó en las tres condiciones. El círculo rojo representa el nivel máximo del número de eventos/muestras. Las líneas horizontales en representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

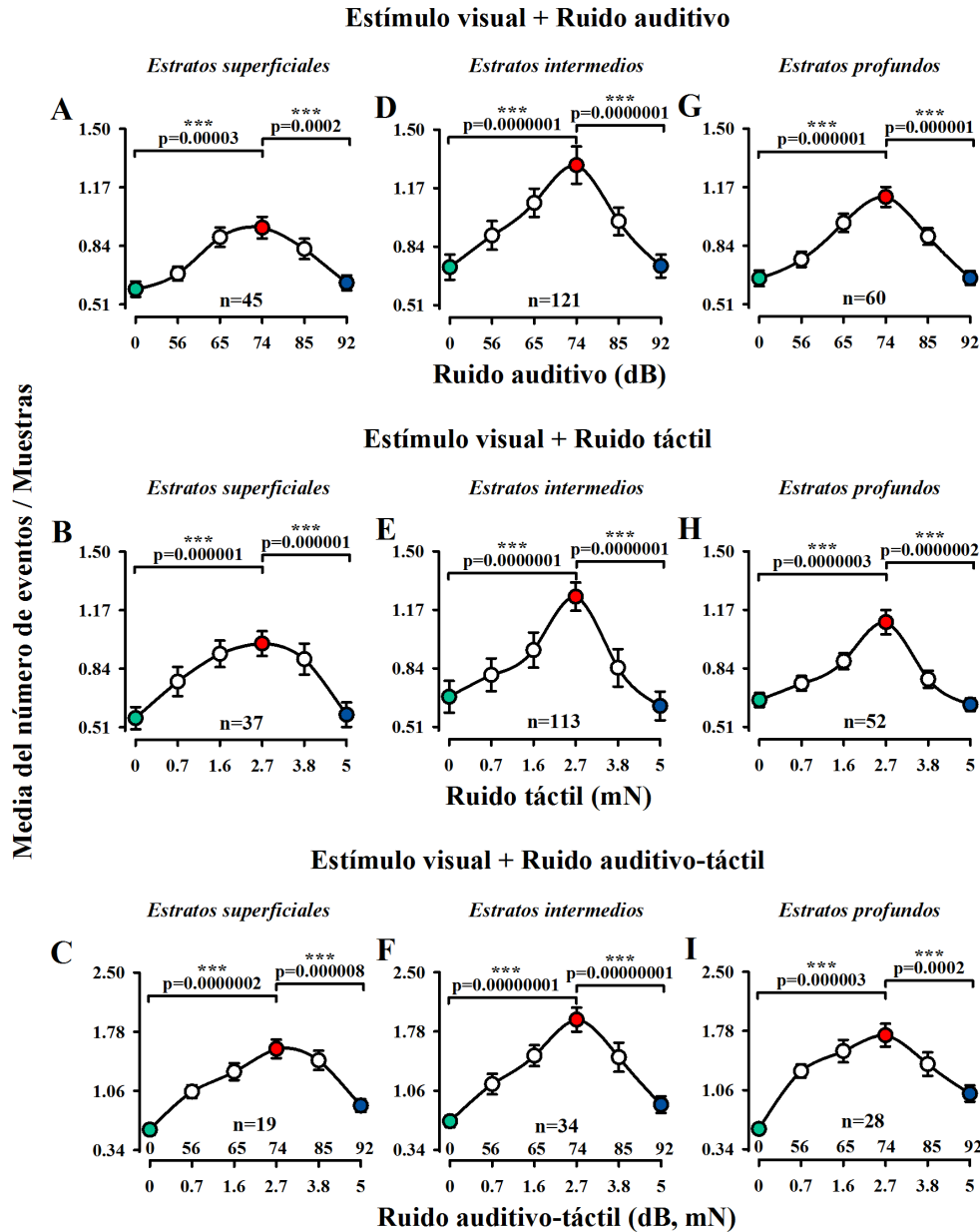
Para examinar la significancia estadística del cociente *número de eventos / muestras* entre los seis niveles de ruido auditivo, ruido táctil y ruido auditivo-táctil obtenidos en tres estratos de los colículos superiores (*estratos superficiales*, *estratos intermedios* y *estratos profundos*) realizamos varias pruebas ANOVA 1 de medidas repetidas. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las seis condiciones de ruido auditivo aplicado a las señales visuales (*VA*) registradas en los *estratos superficiales* ( $F [5,262] = 18.23$ ,  $P = 0.00001$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre N0 vs. N2 ( $P = 0.003$ ), N0 vs. N3 ( $P = 0.0003$ ), N0 vs. N4 ( $P = 0.02$ ) y N3 vs. N5 ( $P = 0.0002$ ), pero no así entre N0 vs. N1 ( $P = 0.7$ ), y N0 vs. N5 ( $P = 0.9$ ) (ver Figura 36A y Tabla 5). Para la condición *VA* de los *estratos intermedios* ( $F [5,720] = 31.29$ ,  $P = 0.0000002$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre N0 vs. N1 ( $P = 0.004$ ), N0 vs. N2 ( $P = 0.0001$ ), N0 vs. N3 ( $P = 0.0000001$ ), N0 vs. N4 ( $P = 0.00004$ ) y N3 vs. N5 ( $P = 0.0000001$ ), pero no así entre N0 vs. N5 ( $P = 0.98$ ) (ver Figura 36D y Tabla 5). Para la condición *VA* de los *estratos profundos* ( $F [5,352] = 13.98$ ,  $P = 0.00003$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre N0 vs. N2 ( $P = 0.0005$ ), N0 vs. N3 ( $P = 0.000001$ ), N0 vs. N4 ( $P = 0.005$ ) y N3 vs. N5 ( $P = 0.000001$ ), pero no así entre N0 vs. N1 ( $P = 0.6$ ) y N0 vs. N5 ( $P = 0.99$ ) (ver Figura 36G y Tabla 5).

Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las seis condiciones de ruido táctil aplicado a las señales visuales (*VT*) registradas en los *estratos superficiales* ( $F [5,216] = 25.9$ ,  $P = 0.0001$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre N0 vs. N1 ( $P = 0.05$ ), N0 vs. N2 ( $P = 0.001$ ), N0 vs. N3 ( $P = 0.000001$ ), N0 vs. N4 ( $P = 0.0002$ ) y N3 vs. N5 ( $P = 0.000001$ ), pero no así entre N0 vs. N5 ( $P = 0.8$ ) (ver Figura 36B y Tabla 5). Para la condición *VT* de los *estratos intermedios* ( $F [5,672] = 28.12$ ,  $P = 0.0000001$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas

entre N0 vs. N1 ( $P = 0.02$ ), N0 vs. N2 ( $P = 0.0003$ ), N0 vs. N3 ( $P = 0.0000001$ ), N0 vs. N4 ( $P = 0.001$ ) y N3 vs. N5 ( $P = 0.0000001$ ), pero no así entre N0 vs. N5 ( $P = 0.76$ ) (ver Figura 36E y Tabla 5). Para la condición *VA* de los *estratos profundos* ( $F [5,306] = 9.3$ ,  $P = 0.000004$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre N0 vs. N1 ( $P = 0.03$ ), N0 vs. N2 ( $P = 0.002$ ), N0 vs. N3 ( $P = 0.0000003$ ), N0 vs. N4 ( $P = 0.00001$ ) y N3 vs. N5 ( $P = 0.000002$ ), pero no así entre y N0 vs. N5 ( $P = 0.9$ ) (ver Figura 36H y Tabla 5).

Por otra parte, los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las seis condiciones de ruido auditivo-táctil aplicado a las señales visuales (*VAT*) registradas en los *estratos superficiales* ( $F [5,108] = 11.61$ ,  $P = 0.0002$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre N0 vs. N1 ( $P = 0.03$ ), N0 vs. N2 ( $P = 0.002$ ), N0 vs. N3 ( $P = 0.0000002$ ), N0 vs. N4 ( $P = 0.005$ ) y N3 vs. N5 ( $P = 0.000008$ ), pero no así entre N0 vs. N5 ( $P = 0.8$ ) (ver Figura 36C y Tabla 5). Para la condición *VAT* de los *estratos intermedios* ( $F [5,198] = 18.56$ ,  $P = 0.0000001$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre N0 vs. N1 ( $P = 0.002$ ), N0 vs. N2 ( $P = 0.0001$ ), N0 vs. N3 ( $P = 0.00000001$ ), N0 vs. N4 ( $P = 0.008$ ) y N3 vs. N5 ( $P = 0.00000001$ ), pero no así entre N0 vs. N5 ( $P = 0.5$ ) (ver Figura 36F y Tabla 5). Para la condición *VAT* de los *estratos profundos* ( $F [5,162] = 19.72$ ,  $P = 0.00004$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre N0 vs. N1 ( $P = 0.005$ ), N0 vs. N2 ( $P = 0.003$ ), N0 vs. N3 ( $P = 0.000003$ ), N0 vs. N4 ( $P = 0.007$ ) y N3 vs. N5 ( $P = 0.0002$ ), pero no así entre y N0 vs. N5 ( $P = 0.63$ ) (ver Figura 36I y Tabla 5).

Estos resultados la función falicitadora de las señales ruidosas en la actividad poblacional de las neuronas multisensoriales que responden a estímulos periódicos visuales. Es posible que la adición de señales estocásticas multisensoriales externas impacta en el ambiente ruidoso interno de las neuronas multisensoriales coliculares.



**Figura 36 | Estadística del efecto del ruido auditivo, del ruido táctil y del ruido combinado auditivo-táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas visuales.** A, D, G. Gran promedio del número de eventos/muestras versus seis intensidades de ruido auditivo que se registraron en los estratos superficiales, intermedios y profundos. B, E, H. Lo mismo que en A, D, G pero para el ruido táctil. C, F, I. Lo mismo

que en A, D, G pero para el ruido auditivo-táctil. Las gráficas muestran la forma de U-invertida. Además, hay un aumento significativo de los cocientes en la condición VAT con respecto a las condiciones VA y VT. El círculo rojo representa el nivel máximo del número de eventos/muestras.

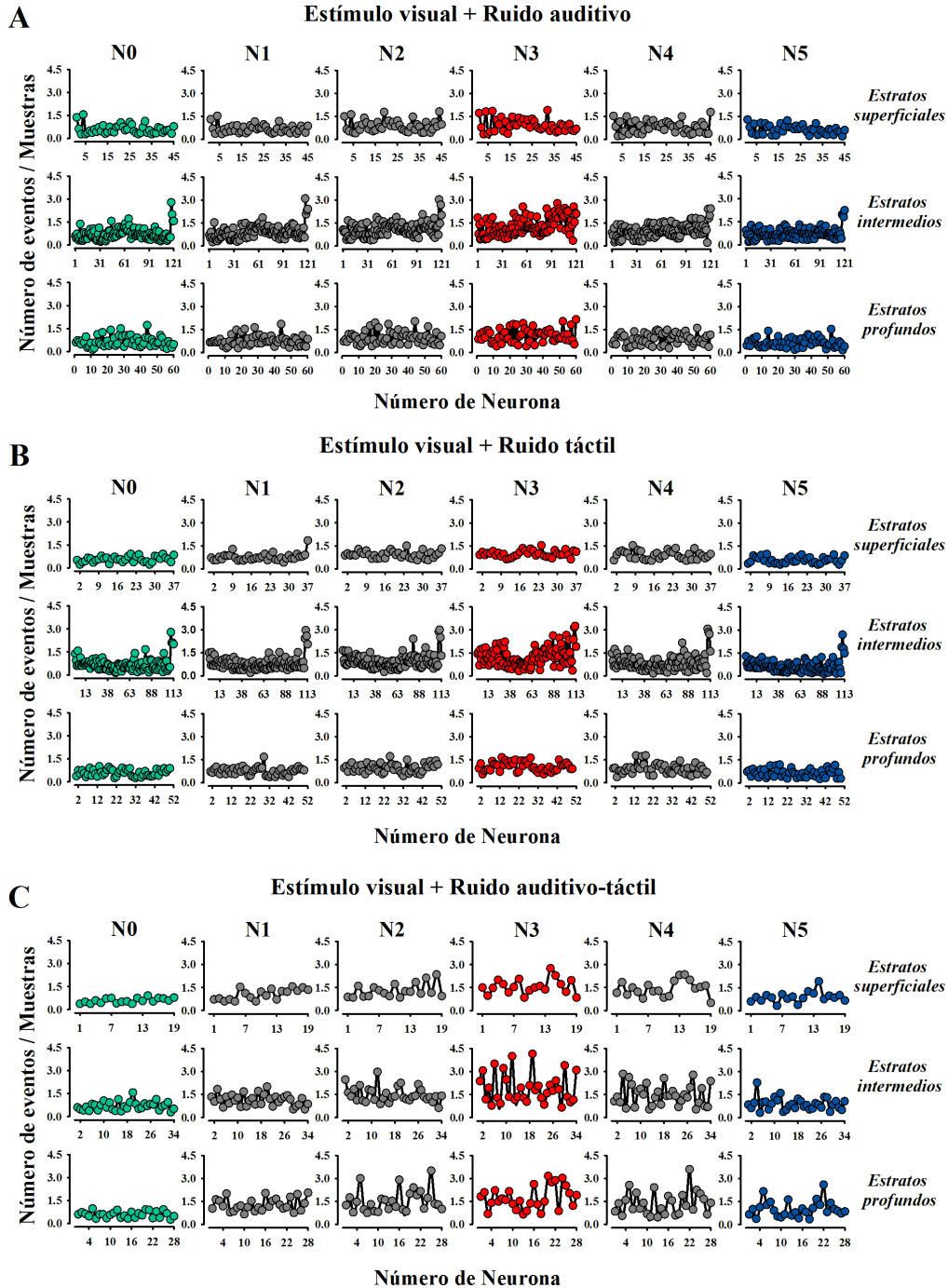
**Tabla 5 | Datos del análisis estadístico paramétrico para la comparación del número de eventos/ muestras en diferentes niveles de ruido auditivo, ruido táctil y ruido combinado auditivo-táctil**

ANOVA 1					Prueba de Tukey					
	n	F	gl	p	N0 vs. N1	N0 vs. N2	N0 vs. N3	N0 vs. N4	N0 vs. N5	N3 vs. N5
VA	45.00	18.23	269.00	0.00001	0.70	0.003	0.0003	0.02	0.9	0.0002
(Estratos superficiales)										
VA	121.00	31.29	725.00	0.0000002	0.004	0.0001	0.0000001	0.00004	0.98	0.0000001
(Estratos intermedios)										
VA	60.00	13.98	359.00	0.00003	0.60	0.0005	0.000001	0.005	0.99	0.000001
(Estratos profundos)										
VT	37.00	25.70	221.00	0.0001	0.05	0.0001	0.000001	0.0002	0.8	0.000001
(Estratos superficiales)										
VT	113.00	28.12	677.00	0.0000001	0.02	0.0003	0.0000001	0.001	0.76	0.0000001
(Estratos intermedios)										
VT	52.00	9.30	311.00	0.000004	0.03	0.0002	0.0000003	0.00001	0.9	0.0000020
(Estratos profundos)										
VAT	19.00	11.61	113.00	0.0002	0.03	0.002	0.0000002	0.005	0.8	0.0000080
(Estratos superficiales)										
VAT	34.00	18.56	203.00	0.0000001	0.002	0.0001	0.00000001	0.008	0.5	0.00000001
(Estratos intermedios)										
VAT	28.00	19.72	167.00	0.00004	0.005	0.003	0.000003	0.007	0.63	0.002
(Estratos profundos)										

VA: visual-auditivo, VT: visual-táctil, VAT: visual-auditivo-táctil; niveles de ruido: nivel cero (N0), nivel uno (N1), nivel dos (N2), nivel 3 (N3), nivel 4 (N4) y nivel 5 (N5).

Para observar los cambios globales del efecto de los diferentes niveles de ruido auditivo, ruido táctil y ruido auditivo-táctil en las respuestas visuales realizamos gráficas del número de eventos/muestras versus el número de neuronas registradas en cada uno de los estratos de los CS. En la Figura 37 se observa que el mayor número de respuestas máximas ocurre cuando se adiciona el nivel 3 de ruido auditivo (74 dB), ruido táctil (2.7 mN) y ruido auditivo-táctil (74 dB, 2.7 mN). Sin embargo, es posible observar que existe heterogeneidad en los valores máximos del cociente del número de eventos/muestras. Para el nivel de ruido 1 (de las tres condiciones: VA, VT y VAT) encontramos un total de 35 neuronas que tuvieron su valor máximo número de eventos/muestra. Para el nivel 2 encontramos 123 neuronas, para el nivel 3 clasificamos 269 y para el nivel 4 hallamos 82 neuronas (Tabla 6).

Claramente observamos que el nivel 3 de ruido auditivo, ruido táctil y ruido auditivo-táctil facilita las respuestas visuales en comparación con los otros niveles de ruido aplicados.



**Figura 37 | Cambios globales de los diferentes niveles de ruido auditivo, del ruido táctil y del ruido combinado auditivo-táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas visuales. A, B, C.** Número de eventos/muestras versus el número de neuronas que se registraron en los estratos superficiales, intermedios y profundos. Obsérvese el aumento significativo de los cocientes para el nivel 3 de estimulación ruidosa en las diferentes condiciones sensoriales.

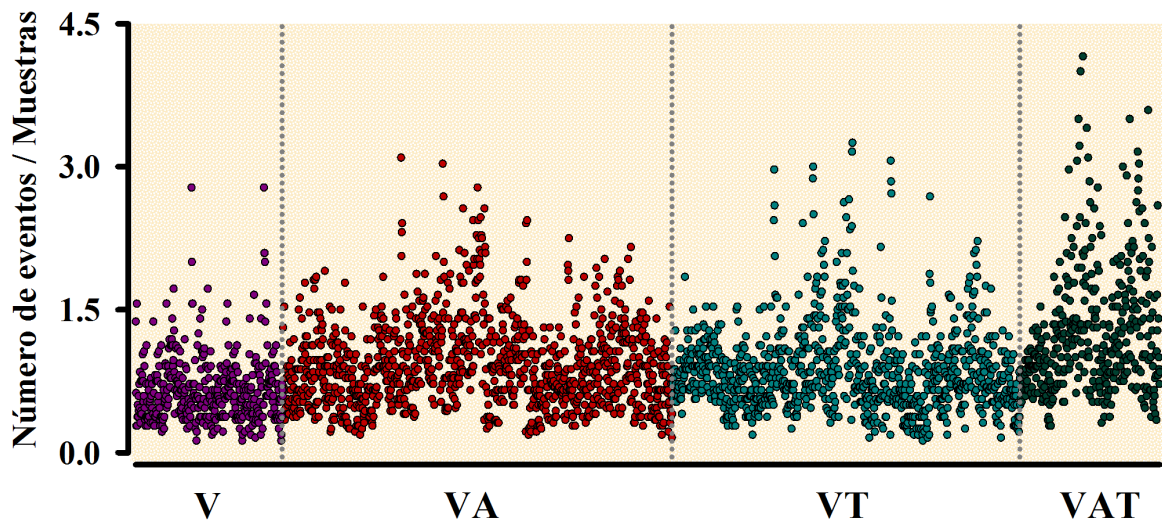
**Tabla 6 | Datos de la clasificación de las neuronas multisensoriales coliculares de acuerdo a su máxima respuesta generada por diferentes niveles de ruido**

Número de neuronas por nivel del ruido										
	Visual-Auditivo			Visual-Táctil			Visual-Auditivo-Táctil			Total
	ES	EI	EP	ES	EI	EP	ES	EI	EP	
<b>N1</b>	2	7	2	2	8	3	2	4	5	35
<b>N2</b>	14	32	12	9	27	12	4	6	7	123
<b>N3</b>	20	68	38	16	63	30	7	16	11	269
<b>N4</b>	9	14	8	10	15	7	6	8	5	82
<b>Total</b>	45	121	60	37	113	52	19	34	28	<b>509</b>

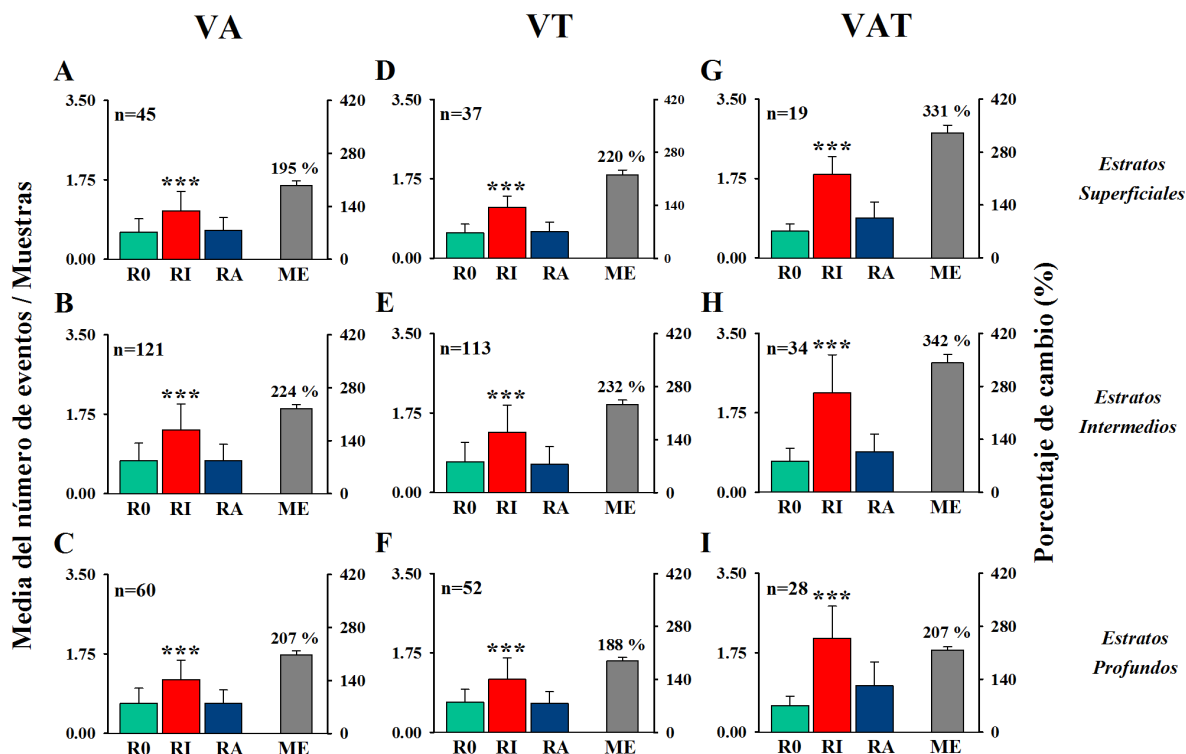
ES: estratos superficiales, EI: estratos intermedios, EP: estratos profundos; niveles de ruido: nivel uno (N1), nivel dos (N2), nivel 3 (N3), nivel 4 (N4).

Finalmente, como se describió previamente para determinar el grado de facilitación de las respuestas de las neuronas multisensoriales empleamos una medida denominada; aumento multisensorial (Stein y Meredith, 1993), la cual nos da idea del grado de *sensibilidad* del sistema cuando existe una condición *control* (estimulación visual periódica únicamente) y otras condiciones experimentales (diferentes niveles de estimulación ruidosa) (Figura 38). Por fines ilustrativos calculamos el *aumento multisensorial* solamente para las respuestas del nivel intermedio de ruido auditivo, ruido táctil y ruido auditivo-táctil para las las respuestas visuales (condición control). Sólo se realizó dicha comparación porque es donde se ve el mayor efecto del ruido sobre las señales visuales. El valor del aumento multisensorial para las 45 neuronas registradas en los estratos superficiales de la condición VA fue de 195% (Figura 39A), para las 121 neuronas registradas en los estratos intermedios de la condición VA fue de 224% (Figura 39B) y para las 60 neuronas registradas en los estratos profundos de la condición VA fue de 207% (Figura 39C). Mientras que el aumento multisensorial para la condición VT fue: 220% (37 neuronas) para los estratos superficiales (Figura 39D), 232% (113 neuronas) para los estratos intermedios (Figura 39E) y 188% (52 neuronas) para los estratos profundos (Figura 39F). Para la condición VAT el aumento multisensorial fue: 331% (19 neuronas) para los estratos superficiales (Figura 39G), 342% (34 neuronas) para los estratos intermedios (Figura 39H) y 207% (28 neuronas) para los estratos profundos (Figura 39I). Los resultados anteriores, muestran que hay un aumento significativo en la sensibilidad de sistema (neuronas de los

colículos superiores), lo que demuestra que las señales internas de los CS pueden ser moduladas por ruido multisensorial.



**Figura 38 | Cambios globales de los diferentes niveles tipos de estimulación sensorial con respecto al número de eventos / muestras de la actividad eléctrica de neuronas visuales.** Obsérvese el aumento significativo de los cocientes para la condición VA, VT y VAT, con respecto al control (V). Sin embargo, el mayor aumento ocurre cuando se adicionan estímulos visuales, auditivos y táctiles de manera conjunta. Es preciso señalar que existe un nivel de ruido intermedio que favorece el aumento del cociente del número de eventos / muestras y a su vez, si el ruido es de mayor intensidad (ruido alto) dicho cociente disminuye. Es por ello que en la porción medial de las divisiones de la gráfica para las condiciones (VA, VT, y VAT) se observan puntos con niveles máximo del número de eventos / muestras. (V= visual, VA= visual-auditivo, VT= visual-táctil, VAT= visual-auditivo-táctil).



**Figura 39 | Aumento multisensorial del ruido intermedio auditivo, táctil y auditivo-táctil en el número de eventos/muestras de la actividad eléctrica de neuronas que responden a estímulos visuales.** **A, B, C.** Número de eventos/muestras y porcentaje de cambio versus el nivel de ruido auditivo para los tres estratos de los colículos superiores. **D, E, F.** Número de eventos/muestras y porcentaje de cambio versus el nivel de ruido táctil para los tres estratos de los colículos superiores. **G, H, I.** Número de eventos/muestras y porcentaje de cambio versus el nivel de ruido combinado auditivo-táctil para los tres estratos de los colículos superiores. Obsérvese el aumento significativo del aumento multisensorial cuando se adicionan de manera conjunta el estímulo periódico visual y el estímulo ruidoso auditivo-táctil.

---

---

## **CAPÍTULO 4**

### **EFFECTO DEL RUIDO COMBINADO AUDITIVO Y TÁCTIL SOBRE LA ONDA EEG P100**

---

---

#### **INTRODUCCIÓN**

Como se mencionó en capítulos anteriores existe un fenómeno donde un nivel intermedio de ruido aumenta la respuesta de un sistema no lineal ante señales débiles, denominado resonancia estocástica (Benzi y cols., 1981; Manjarrez y cols., 2007; McDonell y Abbot, 2009, Mendez-Balbuena y cols., 2012, 2015). Típicamente, la amplitud de la respuesta del sistema no lineal versus el ruido de entrada presenta una forma de U-invertida, caracterizada por un aumento máximo de la respuesta a un nivel particular de ruido. En el año 2015 publicamos un artículo con la metodología que sustenta los resultados de este capítulo (Mendez-Balbuena y cols., 2015).

En la literatura, existen múltiples estudios en humanos del efecto de ruido en las respuestas de la misma modalidad sensorial (Mori y Kai, 2002, Simonotto y cols., 2007, Long y cols., 2004). Por otro lado, son pocos los estudios que evalúan el efecto del ruido de una modalidad en señales de una modalidad diferente, ejemplo de ello, son los experimentos psicofísicos de Manjarrez y colaboradores (2007), donde demostraron por primera vez la ocurrencia del fenómeno de resonancia estocástica multisensorial en las interacciones visuales-auditivas. En relación a las interacciones visuales-táctiles fueron Lugo y cols. (2012) quienes demostraron por medio de estudios psicofísicos en humanos, que el ruido táctil es capaz de decrementar los umbrales de luminiscencia. Dicha señal (táctil) permite detectar mejor las señales visuales débiles. Además, Lugo y cols. (2008)

demonstraron que el ruido auditivo es capaz de facilitar las sensaciones táctiles, visuales y propioceptivas vía la resonancia estocástica multisensorial. Asimismo, Ross y cols. (2007) demostraron que la habilidad, que muestran los humanos, para comprender palabras de otras personas mejora en condiciones ambientales ruidosas. En 2015, nuestro grupo de trabajo dio la primera evidencia experimental del papel funcional del ruido táctil sobre la amplitud de la onda positiva 100 de los potenciales provocados visuales (P100, PPVs). Lo anterior, con el objetivo de entender cómo se procesa la información visuotáctil vía la resonancia estocástica multisensorial dentro del SNC empleando señales electrofisiológicas (Mendez-Balbuena y cols., 2015).

Lo anterior nos habla de la importancia que tiene el sistema visual para interactuar con el medio ambiente. Sin embargo, las respuestas de dicho sistema pueden hacerse más eficientes cuando interactúan con otras modalidades sensoriales, situación a la que estamos expuesto diariamente. Además, con los datos que obtuvimos en un sistema que se encarga de los procesos multisensoriales (colículos superiores) nos surgen la siguiente pregunta: ¿cuál será el efecto de ruido combinado auditivo-táctil en la amplitud de la onda P100 electroencefalográfica de los PPVs? Dado que existe en los humanos un componente importante conocido como proceso de atención. Existen tres posibilidades del efecto del ruido combinado auditivo-táctil: 1. Las amplitudes de los PPVs para la condición VAT sean mayores que las amplitudes de los PPVs para condición VA y la condición VT (*efecto facilitador del ruido combinado auditivo-táctil*), 2. Las amplitudes de los PPVs para la condición VAT sean iguales que las amplitudes de los PPVs para condición VA y la condición VT y 3. Las amplitudes de los PPVs para la condición VAT sean menores que las amplitudes de los PPVs para condición VA y la condición VT (*efecto de oclusión del ruido combinado auditivo-táctil*).

---

---

## **CAPÍTULO 4**

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

---

---

#### **Procedimientos generales**

8 sujetos voluntarios diestros (1 mujer y 7 hombres; 20-31 años de edad; edad promedio:  $23.5 \pm 3.5$  años) sin historial de enfermedades neurológicas tomaron parte en este estudio. Empleamos una muestra de 8 sujetos, como en los estudios previos de nuestro laboratorio (Mendez-Balbuena y cols., 2012, 2015) porque los resultados que obtuvimos con claros y consistente entre y a través de los sujetos. La dominancia manual se probó de acuerdo al cuestionario de Olfield (Olfield, 1971). Todos los sujetos dieron su consentimiento informado para participar en este trabajo (ver Sección Anexos) y se les aplicó un cuestionario previo y posterior al protocolo experimental con preguntas para conocer sobre el estado de salud de los sujetos (ver Sección Anexos). Todos sujetos participaron de acuerdo a la declaración de Helsinki de 1964, establecida por la Asociación Médica Mundial (ver Sección Anexos), de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos y bajo el comité de ética del Instituto de Fisiología del nuestra casa de estudios.

#### **Criterios de inclusión/exclusión/eliminación**

Para la selección de los sujetos participantes en el estudio se emplearon los siguientes criterios:

*De inclusión:*

- I. Sujetos de sexo indistinto.
- II. Sujetos en un rango de edad de 18 a 35 años.
- III. Sujetos que aceptaran participar en el estudio voluntariamente, firmando un consentimiento informado.
- IV. Sujetos sin diagnóstico de patología neurológica.
- V. Sujetos sin consumo de estupefacientes y/o medicamentos de acción neurológica en las últimas 24 horas.

*De exclusión:*

- I. Sujetos menores a 18 o mayores a 35 años.
- II. Sujetos que no aceptaron firmar el consentimiento informado.
- III. Sujetos con diagnóstico de patología neurológica.
- IV. Sujetos con consumo de estupefacientes y/o medicamentos de acción neurológica en las últimas 24 horas.

*De eliminación:*

- I. Sujetos que solicitaron detener el protocolo de estimulación.
- II. Sujetos que reportaron alguna molestia, incomodidad o somnolencia durante el estudio.
- III. Sujetos que se movieron durante el registro electroencefalográfico.
- IV. Sujetos cuya impedancia de los electrodos fuera mayor a 5 kOhm.

## **Paradigma experimental**

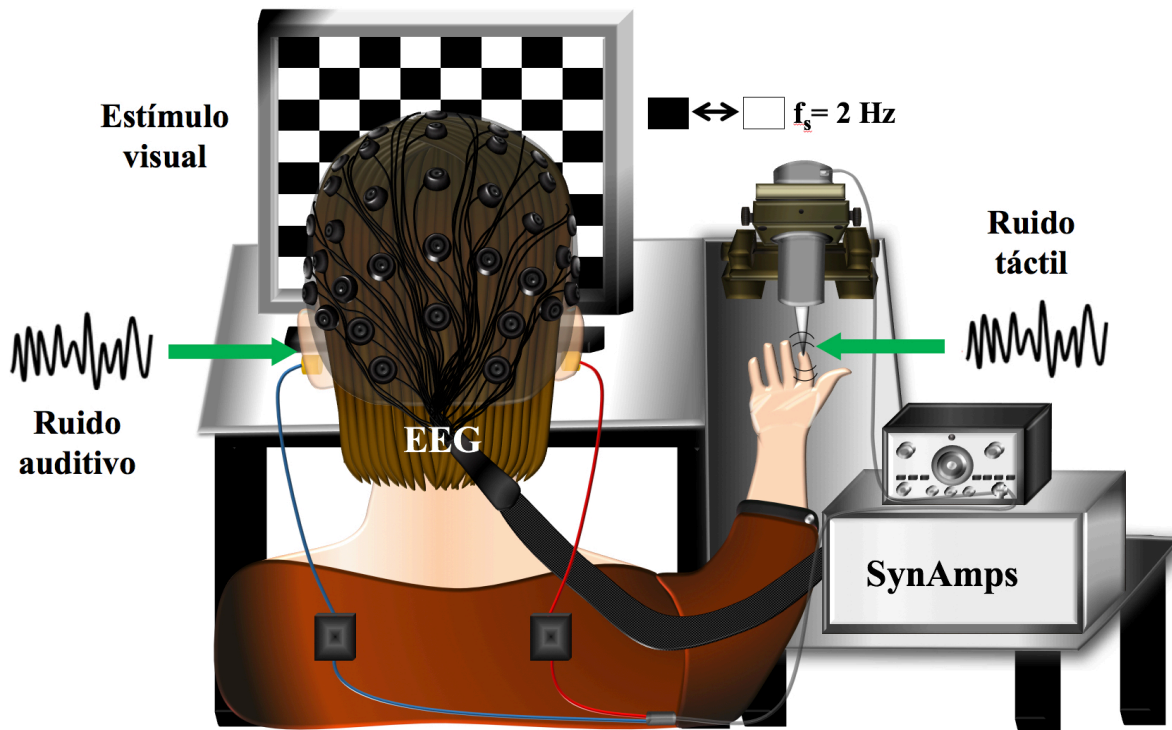
### **Estimulación visual**

Durante la sesión experimental, los sujetos se sentaron cómodamente en una habitación aislada eléctricamente y escasamente iluminada. El estímulo visual consistió en la observación de un patrón reversible (tablero de 8 x 8 con una cruz como punto de fijación; conformado por 32 rectángulos blancos y 32 rectángulos negros, tamaño: 6 cm x 3.5 cm; el patrón revirtió cada 0.5 s, frecuencia de estimulación = 2 Hz) producido por el Sistema NeuroScan Stim (v. 3.0). Los sujetos vieron el patrón reversible a 1 metro de distancia y se les pidió que mantuvieran fija la vista en el centro del monitor (cruz). De manera consistente con lo reportado por Méndez-Balbuena y cols. (2015). Seleccionamos el patrón de 8 x 8 rectángulos porque produce una PPVs P100 con una amplitud ~40 % con respecto a la máxima amplitud de los PPVs P100 producida por el patrón de 32 x 32 rectángulos.

### **Estimulación ruidosa auditiva y táctil**

El estímulo ruidoso auditivo binaural (0, 56, 65, 74, 85, 92 dB) se adicionó a través de un par de audífonos del Sistema NeuroScan Stim (v. 3.0) y acoplados al generador de ruido Wavetek 13. La intensidad de los estímulos auditivos se cuantificó por medio de un medidor de intensidad de sonido (RadioShack 33-2055).

El estímulo ruidoso táctil se aplicó a la piel glabra de la piel de la porción medial del dedo índice. La mano de cada sujeto se mantuvo en posición fija y se colocó una punta (roma) cilíndrica de acrílico de 1 mm de diámetro para aplicar estímulos táctiles sobre el dedo. La estimulación ruidosa táctil consistió de 5 niveles de 0 – 5 mN de fuerza (0, 0.7, 1.6, 2.7, 3.8, 5 mN) y se produjo a través del estimulador-transductor mecánico tipo Chubbuck acoplado a un generador de ruido Wavetek modelo 132 (Figura 40).

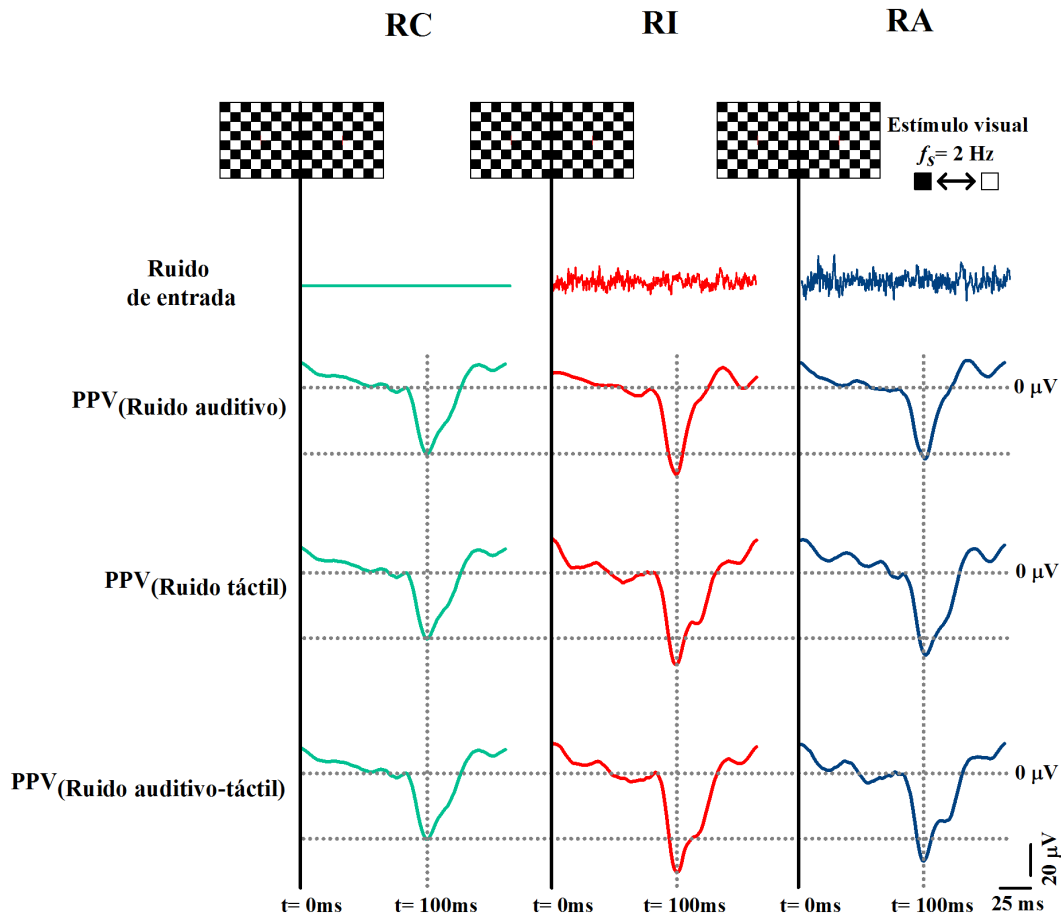


**Figura 40|** *Esquema del arreglo experimental para la estimulación ruidosa auditiva y táctil y la estimulación periódica visual.* El estímulo periódico visual consistió en la presentación cada 0.5 s de un patrón reversible de 8 x 8 rectángulos. La estimulación ruidosa auditiva continua se aplicó binauralmente a través de un par de audífonos. El estímulo ruidoso táctil se aplicó continuamente con el una punta de prueba acoplada al estimulador-transductor mecánico tipo Chubbuck. Registramos señales electroencefalográficas con una gorra de 64 canales del Sistema NeuroScan (SynAmps).

### **Estimulación multisensorial**

La Figura 41 muestra el esquema de los PPVs con la señal visual y el ruido auditivo, ruido táctil y ruido auditivo-táctil para 1 sujeto. Cada grupo de PPVs fue el promedio de 90 muestras. Aplicamos seis niveles diferentes de ruido auditivo (0 – 92 dB), ruido táctil (0-5 mN) y ruido auditivo-táctil (0 – 92 dB, 0-5 mN), incluyendo intervalos de 20 s entre cada nivel de ruido. De acuerdo a los resultados de Mendez-Balbuena y cols. (2015), definimos como ruido intermedio (RI) aquel nivel de ruido que produjo un aumento máximo en la amplitud de la onda P100 del PPV en comparación al ruido cero (R0). Además, definimos

el ruido alto (RA) como el nivel del ruido que produce un decremento significativo de la amplitud de la onda P100 del PPV en comparación al ruido intermedio (RI)



**Figura 41| Promedio de PPVs registrados en la región occipital para tres niveles de ruido (cero, intermedio y alto) en tres condiciones de ruido: auditivo, táctil y auditivo-táctil.** Para este sujeto (S1) los PPVs con la mayor amplitud corresponden a la coordenada POZ. La transición del estímulo visual reversible está indicada por el tablero que muestra en el panel superior de la figura. La línea basal ( $0 \mu\text{V}$ ) del PPV se muestra con la línea punteada superior. La línea punteada inferior ilustra el aumento de la onda P100 con respecto a la condición control (R0).

## **Registro de los PPVs durante la estimulación multisensorial**

Registramos señales electroencefalográficas (EEG, filtro pasabandas DC-200 Hz, con una frecuencia de muestreo de 2 kHz) con una gorra de 64 canales, referenciadas a los lóbulos de las orejas, con tierra en la porción medial de la cabeza, de acuerdo al sistema 10-20 (NeuroScan, SynAmps, El Paso, TX). Las impedancias de los electrodos se mantuvieron por debajo de 5 k $\Omega$ . También registramos el electrooculograma (EOG) para excluir registros contaminados por el movimiento ocular. Todos nuestros datos se guardaron y se analizaron fuera de línea para obtener PPVs durante los diferentes niveles de ruido auditivo, ruido táctil y ruido auditivo-táctil.

## **Análisis de datos**

Realizamos registros continuos de 60 s durante la condición control y durante la aplicación de seis diferentes niveles de ruido auditivo, ruido táctil y ruido auditivo-táctil. Obtuvimos un total de 144 registros (18 registros por sujeto), de los cuales promediamos fuera de línea 60 PPVs libres de artefactos (8640 PPVs) con el programa BrainVision Analyzer 2.0.2 (Munich, Germany). Definimos la amplitud del PPV (P100) como el valor absoluto del valor de la diferencia entre el componente con la mayor amplitud positiva (el componente P100 ocurre ~100 ms) y la línea basal (Figura 41). De esta manera, construimos gráficas de la *amplitud del PPV* versus *nivel de ruido*.

## **Análisis estadístico**

Para demostrar alguna diferencia estadística de la amplitud de los PPVs (P100) entre la condición R0 (Ruido cero), RI (Ruido intermedio) y RA (Ruido alto), en las diferentes intensidades de ruido auditivo, ruido táctil y ruido auditivo táctil, usamos *la amplitud de los PPVs* para estos tres niveles. Debido a que nuestros datos se distribuyeron normalmente (Prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov,  $P > 0.05$ ) y mostraron homogeneidad en sus varianzas (Prueba de Levene,  $P > 0.05$ ); empleamos la prueba paramétrica ANOVA 1 de

medidas repetidas, bajo la hipótesis nula que la variable dependiente *amplitud de los PPVs* fue la misma a través de los factores. Además, empleamos la prueba de Mauchly para verificar que la suposición de esfericidad no se violara. Enseguida, realizamos la prueba *post hoc* de Tukey bajo la hipótesis nula que las diferencias entre las condiciones R0 vs. RI, RO vs. RA y R0 vs. RA, son cero. Los resultados se reportaron como significativos si  $P < 0.05$ . Finalmente, consideramos el valor de significancia a una cola.

---

---

## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS

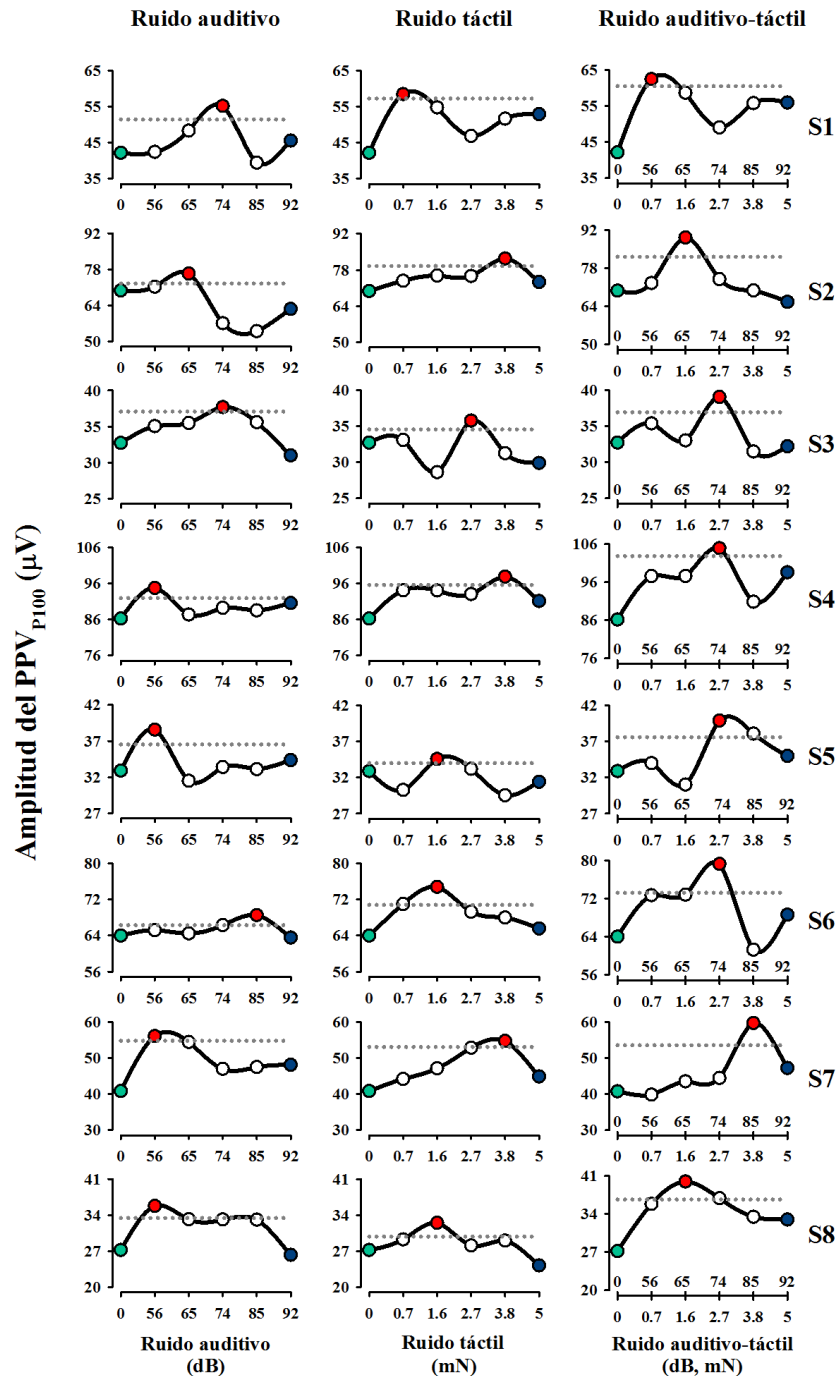
---

---

#### **Efecto del ruido auditivo, ruido táctil y ruido combinado auditivo-táctil en los potenciales provocados visuales de la corteza occipital**

Realizamos experimentos en un 8 sujetos sanos. De los cuales, la máxima amplitud de los PPVs ocurrió principalmente en la corteza occipital, particularmente en POZ (3/8), PO4 (2/8), O1 (1/8), O2 (1/8) y PO6 (1/8) cuando se adicionó un nivel intermedio de ruido auditivo, ruido táctil y ruido auditivo-táctil. La Figura 42 muestra registros promediados de los PPVs para tres condiciones de ruido: cero, (R0), intermedio (RI) y alto (RA) (correspondientes al sujeto 1).

Calculamos la amplitud de la onda P100 de los PVSs para cada nivel de ruido auditivo que aplicamos (*VA*: R0=  $49.46 \pm 3.5$ , RI=  $57.84 \pm 3.4$ , RA=  $50.23 \pm 2.53$ ; *VT*: R0=  $49.46 \pm 3.5$ , RI=  $58.87 \pm 4.6$ , RA=  $51.65 \pm 3.4$  y *VAT*: R0=  $49.46 \pm 3.5$ , RI=  $64.33 \pm 4.8$ , RA=  $54.52 \pm 4.08$   $\mu\text{V}$ , media  $\pm$  error estándar). La Figura 43 ilustra los resultados de los todos los sujetos, en los cuales observamos que las gráficas de la amplitud del PPV versus el ruido auditivo exhiben una forma de U-invertida (8/8 sujetos). Note que hay un nivel intermedio de ruido auditivo entre 56 y 92 dB, de ruido táctil entre 0.7 y 5 mN y de ruido auditivo-táctil entre 56 y 92 dB y 0.7 y 5 mN; que producen un aumento la amplitud de los PPVs.



**Figura 42| Efecto del ruido auditivo, del ruido táctil y del ruido auditivo-táctil en la amplitud de los PPVs de la corteza occipital primaria.** Amplitud de los PPVs vs. diferentes tipos de ruido de entrada. Dentro de un nivel particular de ruido, la amplitud del componente P100 de los PPVs mostró una forma de U-invertida para todos los sujetos

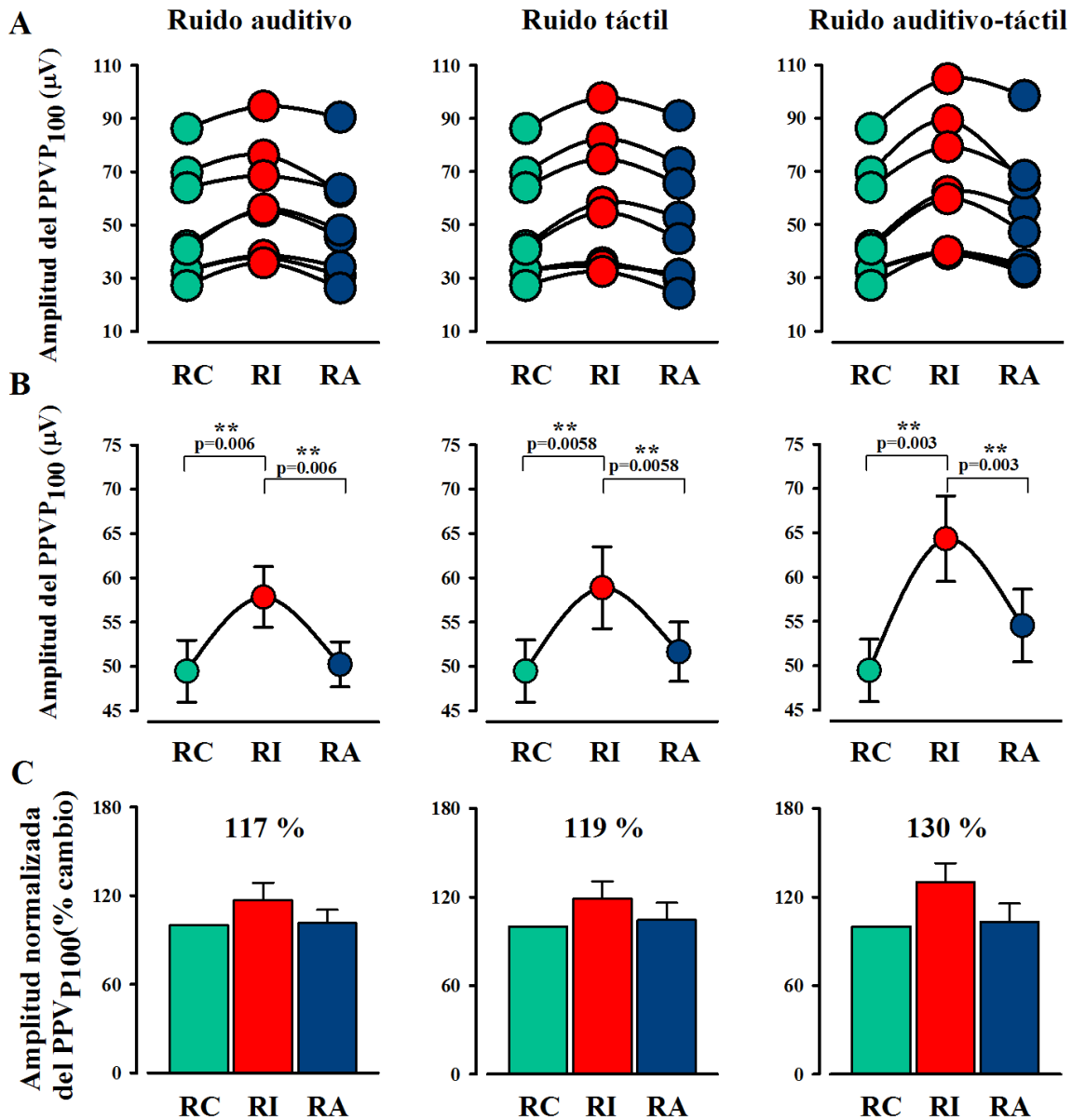
(8/8). Note las diferencias individuales en las amplitudes de los PPVs. Las líneas horizontales representan la magnitud del intervalo de confianza del 95%.

Para examinar la significancia estadística de la amplitud del componente P100 de los PPVs entre los niveles de ruido auditivo, ruido táctil y ruido auditivo-táctil en los 8 sujetos realizamos la prueba ANOVA 1 de medidas repetidas para tres niveles de ruido auditivo, tres niveles de ruido táctil y tres niveles de ruido auditivo-táctil. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre tres condiciones de ruido auditivo aplicado a los PPVs ( $F [2, 21] = 45.6, P = 0.0002$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre R0 vs. RI ( $P = 0.006$ ), RI vs. RA ( $P = 0.006$ ), pero no así entre R0 vs. RA ( $P = 0.9$ ) (ver Figura 43 y Tabla 7). Por otra parte, mostraron diferencias estadísticamente significativas entre tres condiciones de ruido táctil aplicado a los PPVs ( $F [2, 21] = 42.1, P = 0.0002$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre R0 vs. RI ( $P = 0.0058$ ), RI vs. RA ( $P = 0.0058$ ), pero no así entre R0 vs. RA ( $P = 0.8$ ) (ver Figura 43 y Tabla 7). Para los resultados del ruido auditivo-táctil, los PPVs mostraron diferencias estadísticamente significativas entre tres condiciones ( $F [2, 21] = 50.8, P = 0.0002$ ). Una prueba *post hoc* para comparación múltiple (Prueba de Tukey) mostró diferencias significativas entre R0 vs. RI ( $P = 0.003$ ), RI vs. RA ( $P = 0.003$ ), pero no así entre R0 vs. RA ( $P = 0.2$ ) (ver Figura 43 y Tabla 7).

Estos resultados demuestran que la adición de ruido auditivo, ruido táctil produce una forma de U-invertida en la amplitud de PPVs de la corteza occipital. Sin embargo, la amplitud de los PPVs para el nivel intermedio de estimulación ruidosa, es mayor para la condición visual-auditiva-táctil, en comparación a las amplitudes de las condiciones visual-auditiva y visual-táctil.

Como se describió en la Sección de Resultados del Capítulo 3. Para determinar el grado de facilitación de las respuestas de las neuronas multisensoriales empleamos la medida denominada; aumento multisensorial Para la comparación de la condición V con respecto a la condición VA (ruido intermedio) = 117 %, la condición VT (ruido intermedio) = 119 % y para la condición VAT (ruido intermedio) = 130 %. Lo anterior nos indica que

existe mayor facilitación de las respuestas de las neuronas de la corteza occipital cuando se adicionan varios estímulos sensoriales.



**Figura 43| Efecto del ruido auditivo, del ruido táctil y del ruido combinado auditivo-táctil en la amplitud de los PPVs (P100).** **A.** Datos agrupados de para la amplitud promedio del PPV para todos los sujetos (8/8) en diferentes condiciones de ruido auditivo, ruido táctil, y ruido combinado auditivo-táctil. **B.** Gran promedio de la amplitud de los PPVs vs. ruido auditivo, ruido táctil, y ruido auditivo-táctil, respectivamente. **C.** Amplitud normalizada del PPV versus ruido de entra. Note la forma de U-invertida para todos los

sujetos. Observe el aumento significativo de la amplitud del PPV (30%) con respecto al control, para la condición: estímulo visual + ruido combinado auditivo-táctil.

**Tabla 7 | Datos del análisis estadístico paramétrico para la comparación de la amplitud de los PPVs en diferentes niveles de ruido auditivo y ruido táctil**

		ANOVA 1				Prueba de Tukey		
<b>P100-PPV</b>	<b>n</b>	<b>F</b>	<b>gl</b>	<b>p</b>	<b>R0 vs. RI</b>	<b>RI vs. RA</b>	<b>R0 vs. RA</b>	
(Ruido auditivo)	8.00	45.60	23.00	0.002	0.006	0.006	0.9	
<b>P100-PPV</b>	<b>n</b>	<b>F</b>	<b>gl</b>	<b>p</b>	<b>R0 vs. RI</b>	<b>RI vs. RA</b>	<b>R0 vs. RA</b>	
(Ruido táctil)	8.00	42.10	23.00	0.002	0.0058	0.0058	0.8	
<b>P100-PPV</b>	<b>n</b>	<b>F</b>	<b>gl</b>	<b>p</b>	<b>R0 vs. RI</b>	<b>RI vs. RA</b>	<b>R0 vs. RA</b>	
(Ruido auditivo-táctil)	8.00	50.80	23.00	0.00	0.003	0.003	0.2	

P100-PPVs, componente P100 del potencial provocado visual, niveles de ruido: nivel cero (R0), nivel intermedio (RI), nivel alto (RA).

Con los datos obtenidos anteriormente, donde mostramos que existe un aumento significativo en la amplitud del componente P100 de los PPVs cuando adicionamos un nivel intermedio *óptimo* de ruido auditivo, ruido táctil y ruido combinado auditivo-táctil. Surge una incógnita en relación a ¿cuáles serán los cambios globales de la actividad eléctrica de la corteza cerebral cuando adicionamos diferentes condiciones de estimulación ruidosa?

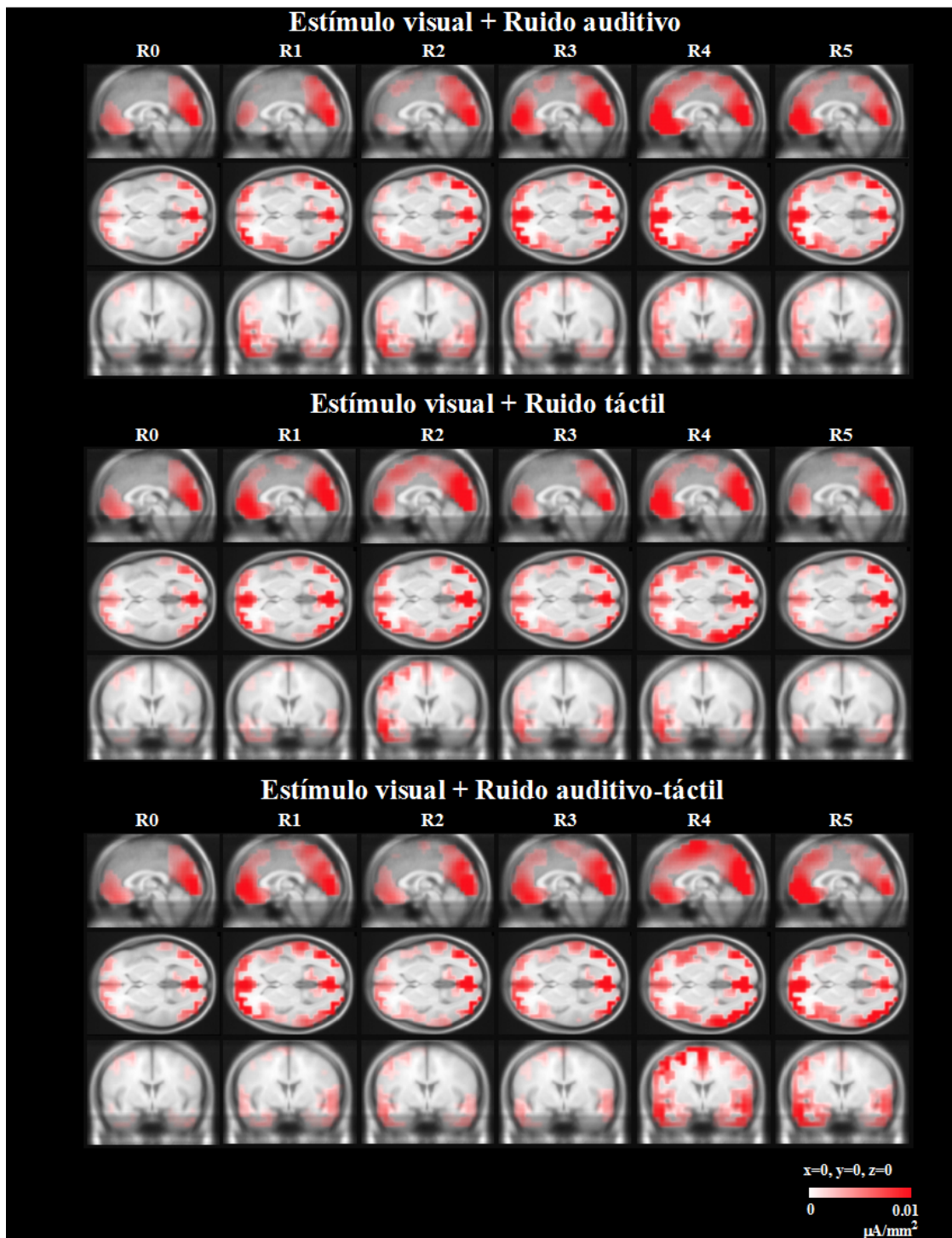
Si bien, la modulación de la amplitud del PPV nos indica un efecto *benéfico* del ruido, estos cambios sólo podemos observarlos como cambios *locales* muy puntuales y que son posibles caracterizarlos con la medición de su amplitud, de la amplitud normalizada, de la RSR, etcétera. Un método de imagenología ampliamente usado para determinar la localización de la actividad eléctrica cerebral, conocido como: *LORETA* (por sus siglas en inglés, Tomografía Electromagnética de Baja Resolución) implementado por primera vez por Pascual-Marqui y cols. (1994).

El método *LORETA* tiene como objetivo emplear los registros electroencefalográficos para localizar la fuente primaria de la actividad eléctrica del cerebro ante diferentes condiciones (en reposo, durante la estimulación sensorial, ejecución de

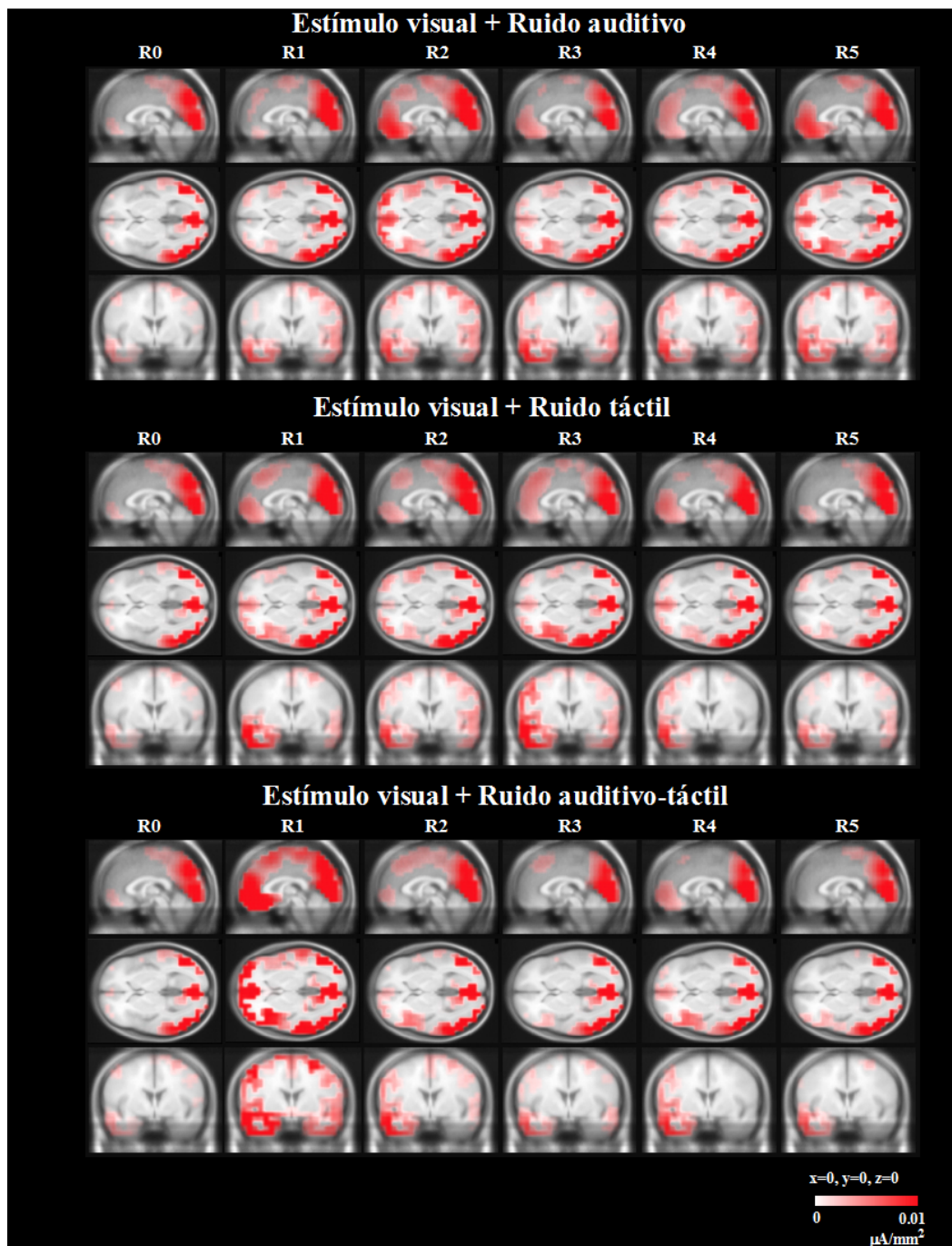
tares motoras, etc.). El método LORETA emplea una distribución tridimensional (x, y, z) para observar los cambios de corriente en el plano sagital, horizontal y coronal.

Con lo anterior, empleamos el método LORETA en los 8 sujetos que tomaron parte en nuestro estudio (a los cuales les realizamos registro EEG con una gorra de 64 canales) para observar el cambio de la actividad eléctrica cuando adicionamos diferentes estímulos sensoriales. Con el programa BrainVision Analyzer 2.0.2 (Munich, Germany), obtuvimos las imágenes para el el plano sagital, horizontal y coronal (ejes  $x=0$ ,  $y=0$ ,  $z=0$ ) bajo tres protocolos experimentales: 1. Estimulación periódica visual + Estimulación ruidosa auditiva, 2. Estimulación periódica visual + Estimulación ruidosa táctil y 3. Estimulación periódica visual + Estimulación ruidosa auditiva-táctil.

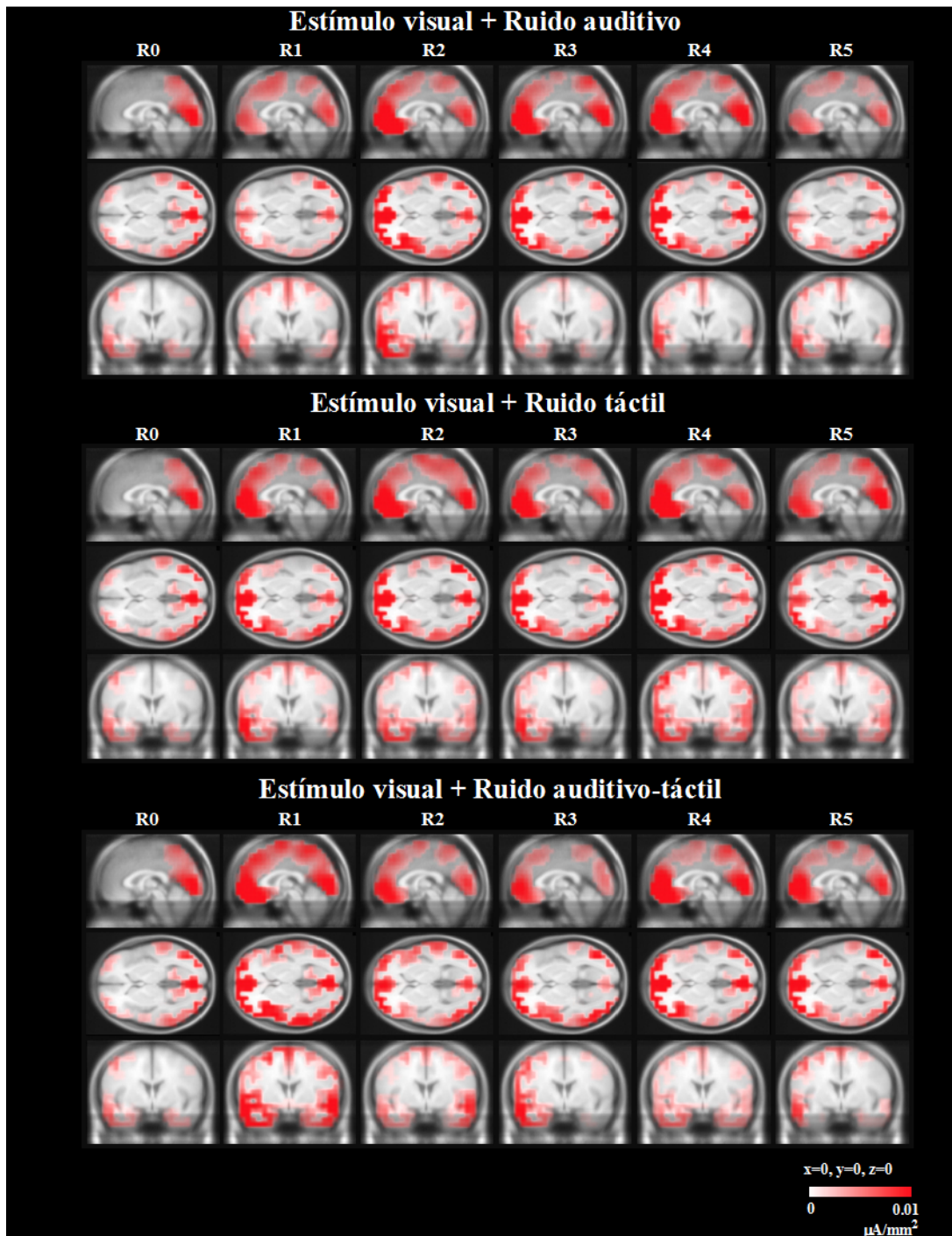
En todos los sujetos (8/8), observamos que en la condición control (Estimulación visual únicamente) la actividad eléctrica se concentra en la región occipital, lo cual es consistente con el tipo de estimulación sensorial que presentamos (patron reversible de 8 x 8, 2 Hz de frecuencia). Además, observamos que al adicionar niveles *intermedios* de ruido auditivo (56 - 92 dB), ruido táctil y ruido auditivo-táctil la actividad eléctrica neuronal alcanza un máximo nivel, el cual disminuye cuando adicionamos ruido de alta intensidad (ver cambios en el color rojo de cada imagen del encéfalo). En las Figuras 44, 45, 46, 47, 48, 48, 49, 50, es posible observar que en algunos sujetos existe una propagación occipito-frontal de la actividad eléctrica, estos hallazgos son consistentes con lo reportado por Arrieta-Rojas (2010, tesis de Licenciatura).



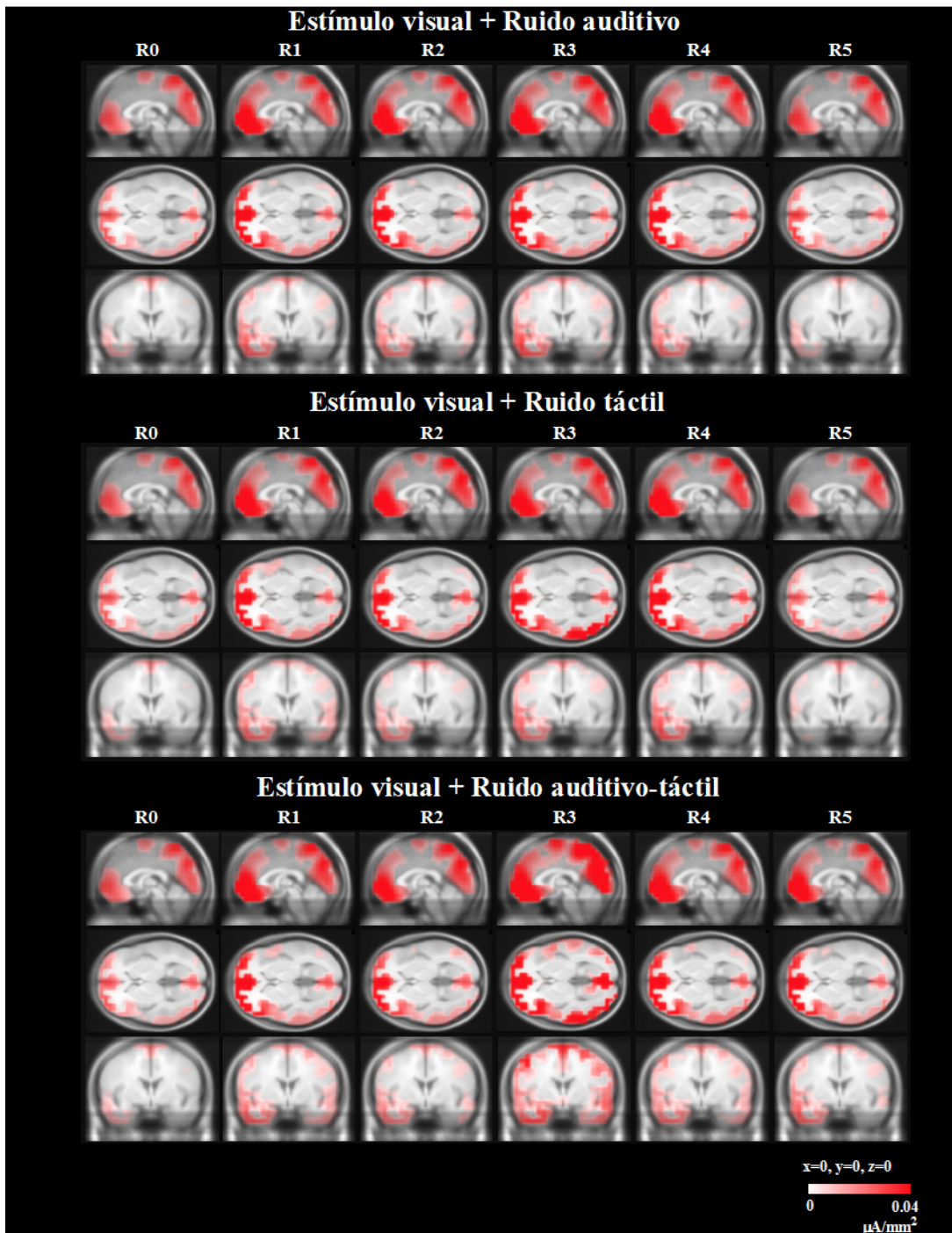
**Figura 44| LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 1.** Imágenes de la densidad de corriente correspondiente al PPV durante la aplicación de ruido auditivo (panel superior), ruido táctil (panel intermedio) y ruido combinado auditivo-táctil (panel inferior). Obsérvece el aumento de la densidad de corriente con un nivel intermedio de ruido.



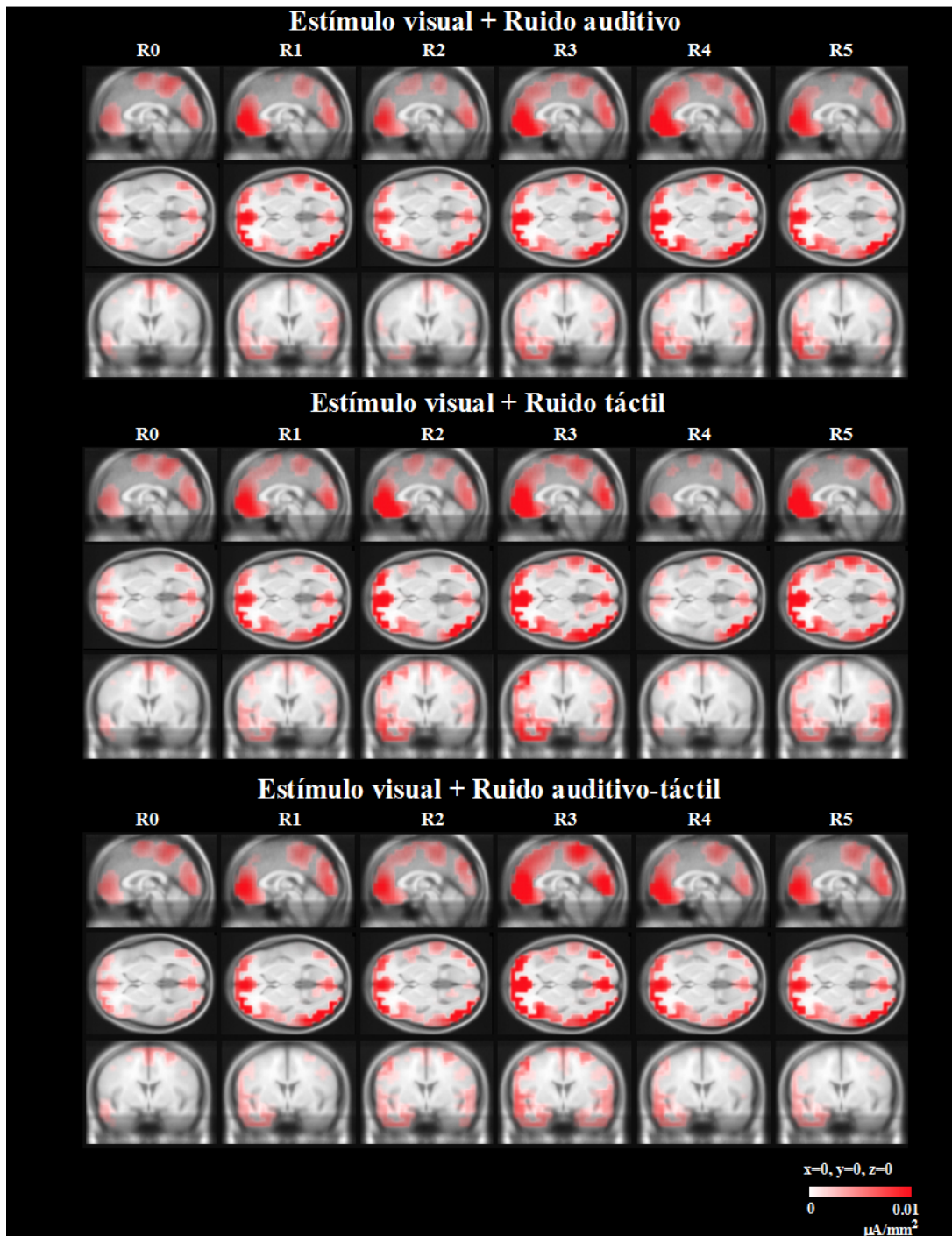
**Figura 45| LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 2.** Imágenes de la densidad de corriente correspondiente al PPV durante la aplicación de ruido auditivo (panel superior), ruido táctil (panel intermedio) y ruido combinado auditivo-táctil (panel inferior). Obsérvece el aumento de la densidad de corriente con un nivel intermedio de ruido.



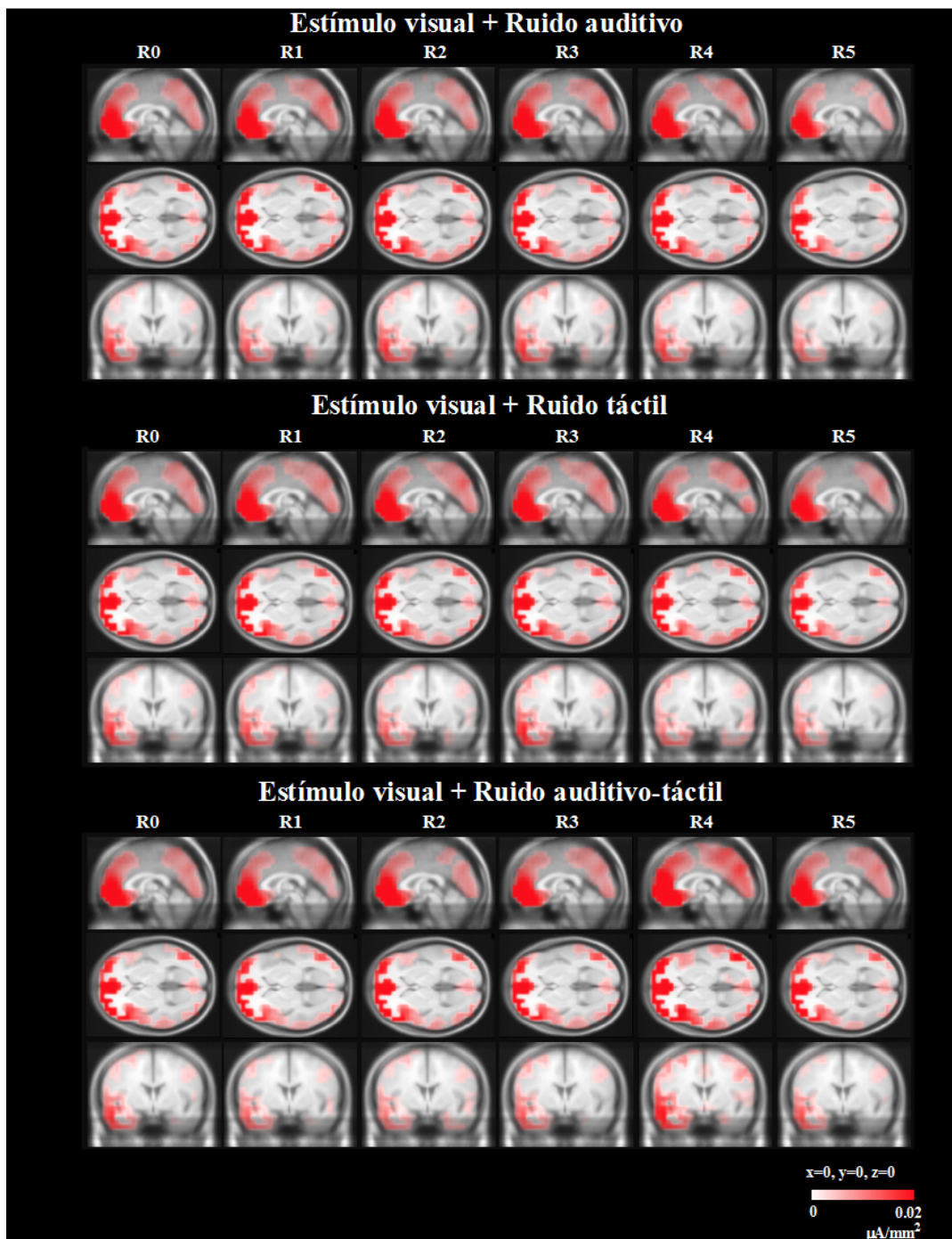
**Figura 46| LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 3.** Imágenes de la densidad de corriente correspondiente al PPV durante la aplicación de ruido auditivo (panel superior), ruido táctil (panel intermedio) y ruido combinado auditivo-táctil (panel inferior). Obsérvece el aumento de la densidad de corriente con un nivel intermedio de ruido.



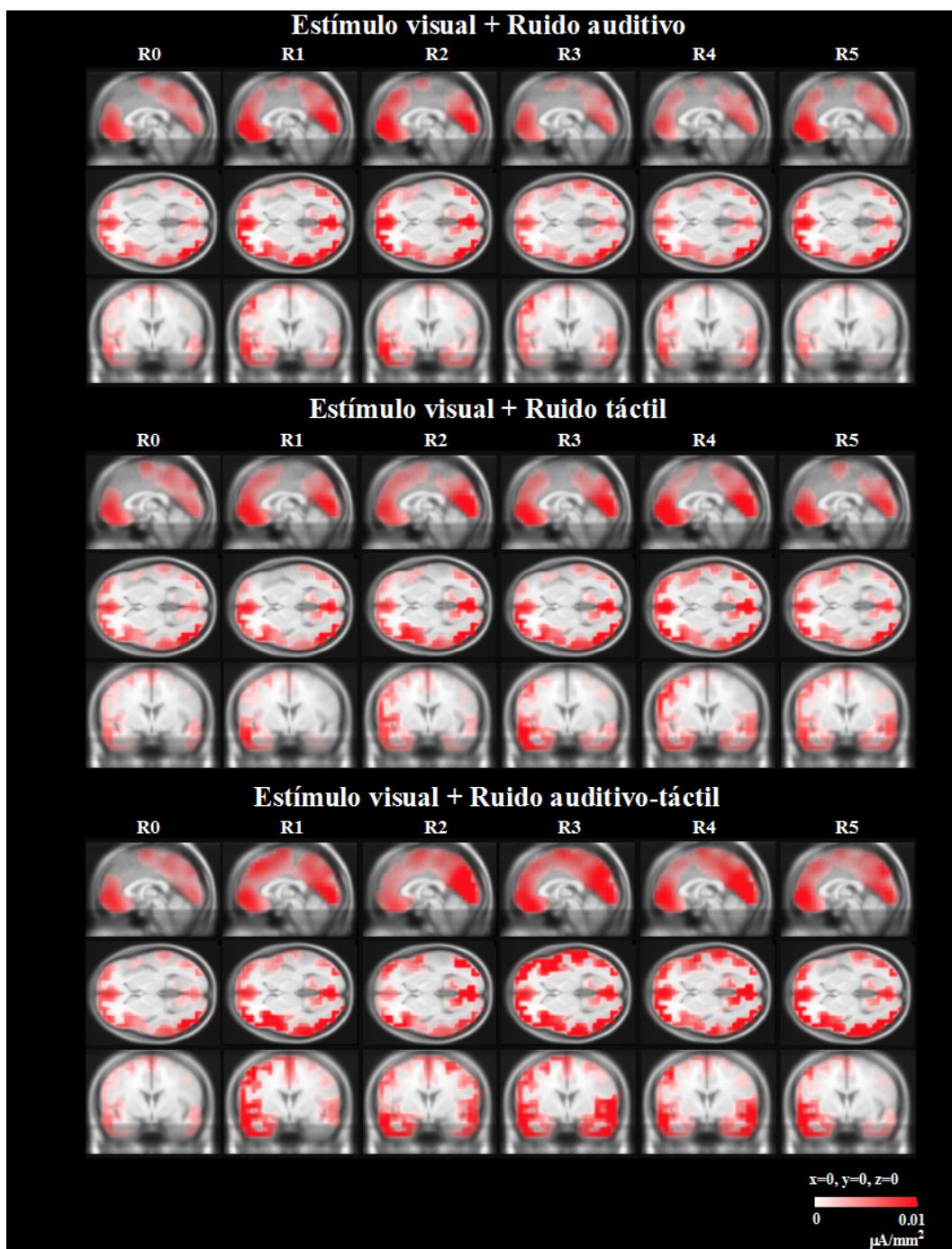
**Figura 47| LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 4.** Imágenes de la densidad de corriente correspondiente al PPV durante la aplicación de ruido auditivo (panel superior), ruido táctil (panel intermedio) y ruido combinado auditivo-táctil (panel inferior). Obsérvece el aumento de la densidad de corriente con un nivel intermedio de ruido.



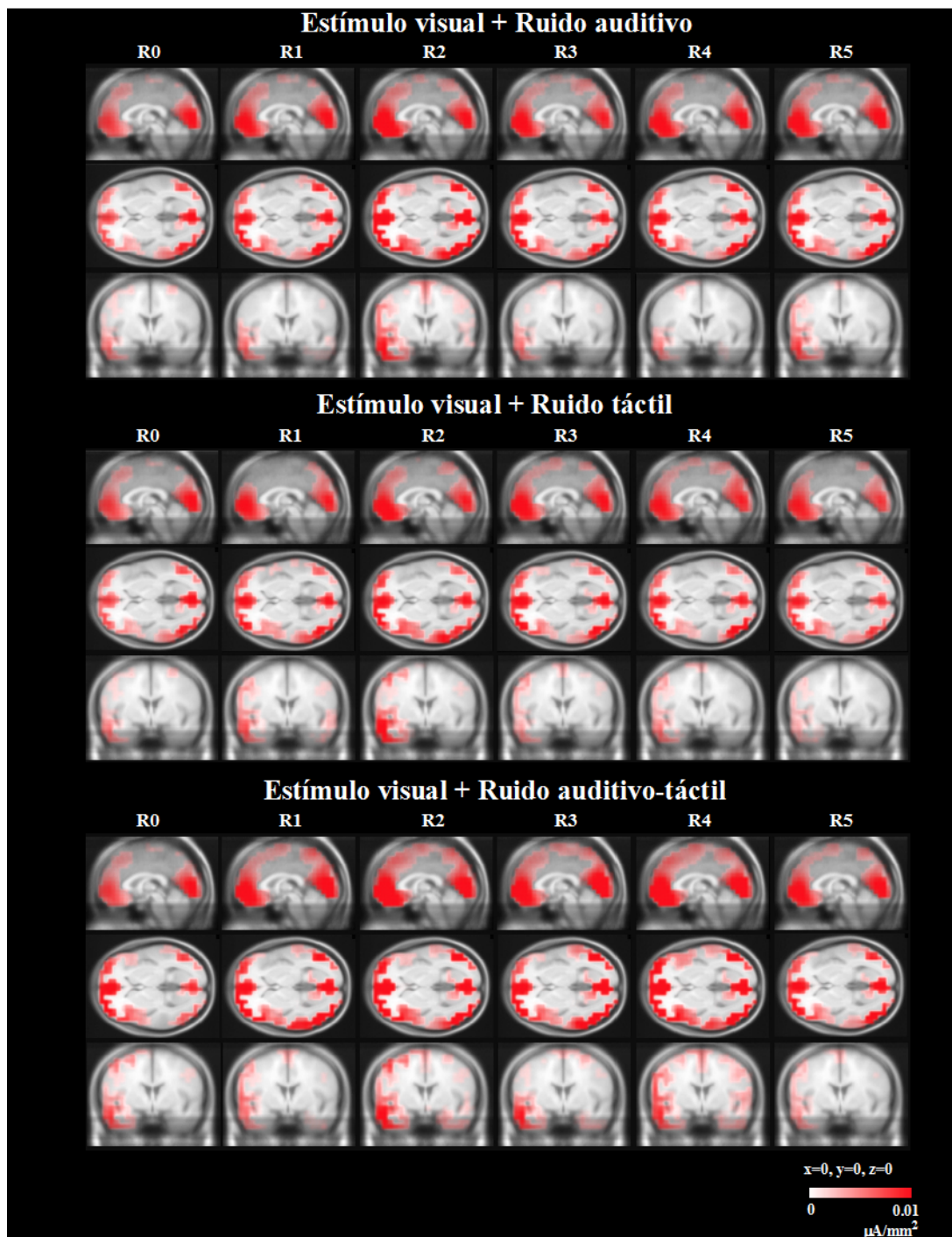
**Figura 48| LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 5.** Imágenes de la densidad de corriente correspondiente al PPV durante la aplicación de ruido auditivo (panel superior), ruido táctil (panel intermedio) y ruido combinado auditivo-táctil (panel inferior). Obsérvece el aumento de la densidad de corriente con un nivel intermedio de ruido.



**Figura 49| LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 6.** Imágenes de la densidad de corriente correspondiente al PPV durante la aplicación de ruido auditivo (panel superior), ruido táctil (panel intermedio) y ruido combinado auditivo-táctil (panel inferior). Obsérvece el aumento de la densidad de corriente con un nivel intermedio de ruido.



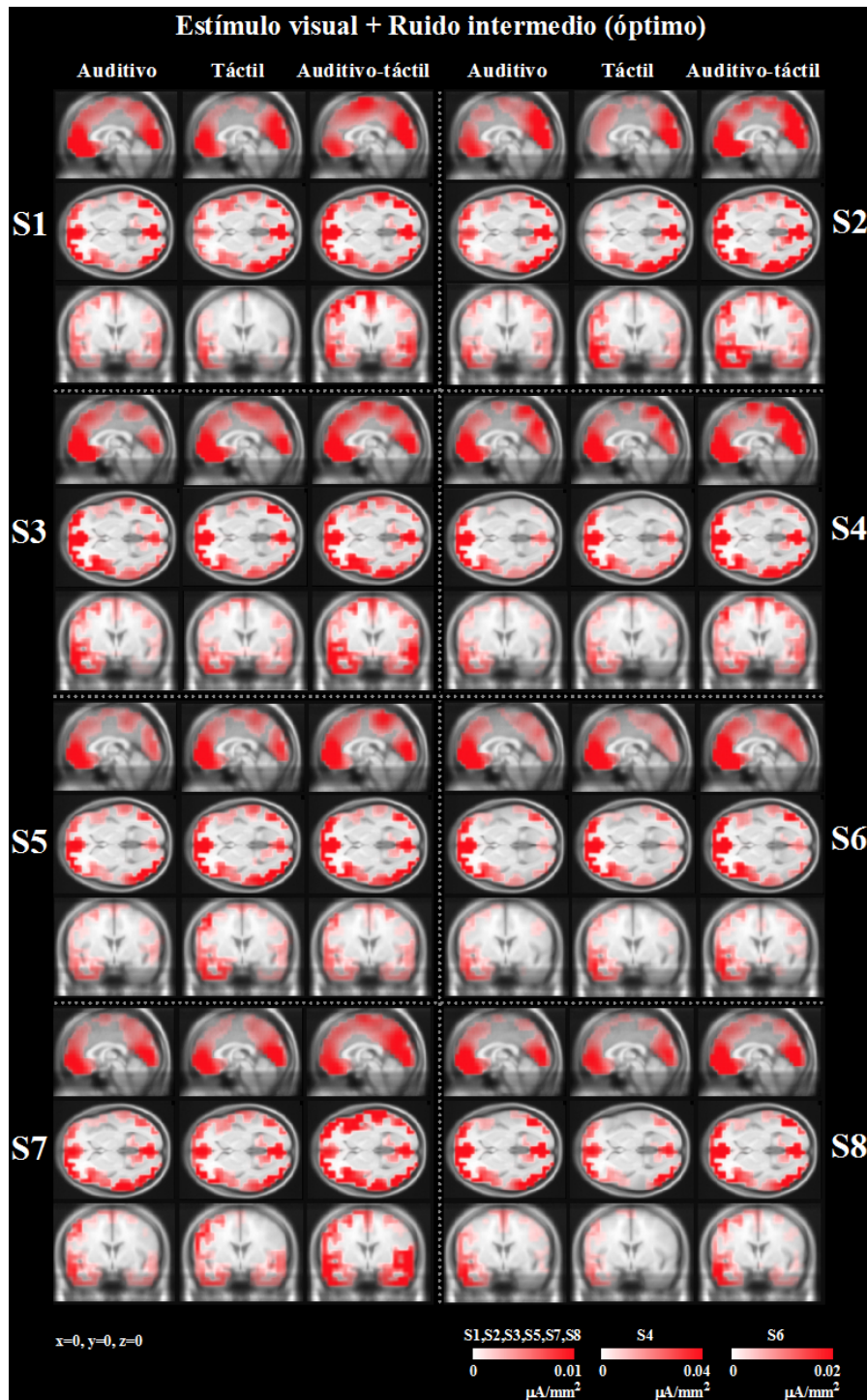
**Figura 50| LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 7.** Imágenes de la densidad de corriente correspondiente al PPV durante la aplicación de ruido auditivo (panel superior), ruido táctil (panel intermedio) y ruido combinado auditivo-táctil (panel inferior). Obsérvece el aumento de la densidad de corriente con un nivel intermedio de ruido.



**Figura 51| LORETA de la región occipital durante tres protocolos de estimulación multisensorial para el sujeto 8.** Imágenes de la densidad de corriente correspondiente al PPV durante la aplicación de ruido auditivo (panel superior), ruido táctil (panel intermedio) y ruido combinado auditivo-táctil (panel inferior). Obsérvece el aumento de la densidad de corriente con un nivel intermedio de ruido.

Interesantemente, cuando adicionamos tres modalidades sensoriales hay un aumento de la actividad eléctrica de manera global. La Figura 51 muestra la comparación del estímulo visual + ruido intermedio (óptimo) de las condiciones de ruido aditivo, ruido táctil y ruido auditivo-táctil. En los 8 sujetos, se observa claramente el mayor aumento de la actividad eléctrica de la corteza cerebral cuando interactúan las señales visuales, auditivas y táctiles. Lo anterior, es consistente con nuestros hallazgos relacionados al aumento significativo del *número de neuronas/muestras* de la descarga de neuronas multisensoriales de los colículos superiores cuando adicionamos señales periódicas visuales y señales ruidosas auditivas-táctiles.

Estos resultados favorecen nuestra hipótesis del *efecto facilitador del ruido combinado auditivo-táctil*.



**Figura 52** | *LORETA de la región occipital durante el estímulo visual + ruido intermedio en tres protocolos de estimulación multisensorial.* Imágenes de la densidad de corriente correspondiente al PPV durante la aplicación de ruido intermedio para 8 sujetos. Obsérvese el mayor aumento de la densidad de corriente con un nivel intermedio de ruido auditivo-táctil.

---

---

## CAPÍTULO 5

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

---

---

La aleatoriedad es una propiedad emergente del SNC, la cual nos permite conocer los principios de organización de éste. Un fenómeno asociado a dicha aleatoriedad es la resonancia estocástica cuyo objetivo es amplificar las respuestas de un sistema no lineal para facilitar la transmisión de la información sensorial y multisensorial.

En las cortezas visual (Arieli y cols., 1996), auditiva y somatosensorial (Bindman y cols., 1964), se propuso que la variabilidad de las respuestas corticales producidas por estímulos periódicos ocurre por la presencia de la alta actividad poblacional espontánea de fondo. Además, las fluctuaciones en la actividad de fondo en redes neuronales de células corticales piramidales son importantes en la detección de eventos (Hô y Destexhe, 2000), o bien, participan como señales de control que son capaces de modular las respuestas a entradas excitatorias (Chance y cols., 2002). Por lo anterior se propuso que la actividad de fondo de grupos de neuronas del SNC representan el *estado basal* del sistema y tiene un papel funcional importante en el procesamiento y control de múltiples señales sensoriales (Arieli y cols., 1996; Manjarrez y cols., 2000).

Una de las fuentes de ruido más importantes a nivel neuronal ocurre en las sinapsis o conexiones entre neuronas (Blessloff, 1995; Brunel y cols., 2001), de tal manera que la actividad de fondo que presentan ciertos grupos de neuronas puede considerarse como ruido sináptico o ruido interno. En relación a las señales sensoriales, la alta correlación entre las magnitudes de la actividad provocada y la actividad espontánea permiten suponer que el ruido sináptico tiene un papel funcional en la codificación de dicha información sensorial (Manjarrez y cols., 2002).

## **Efecto de la Fotoestimulación Ruidosa Optogenética sobre la relación señal-ruido de los potenciales provocados somatosensoriales de ratones transgénicos y no transgénicos**

Por primera vez, en ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP, se observó que una intensidad intermedia de fotoestimulación ruidosa optogenética de 470 nm aplicada a la corteza cerebral aumentó la RSR de los potenciales provocados somatosensoriales. Por otra parte, en los ratones silvestres C57, no se existe algún aumento significativo de la RSR de los PPSs cuando aplicamos los mismos niveles de FRO.

Empleamos el protocolo de fotoestimulación ruidosa optogenética para inducir ruido a las neuronas. Además, incrementamos la intensidad de la FRO con el objetivo de aumentar el número de entradas ruidosas. Con esto, encontramos que las gráficas de la  $RSR_{AN}$  versus el ruido de entrada (FRO) exhibió una forma de U-invertida. Una posible interpretación de dichos resultados es que observamos la amplificación de la  $RSR_{AN}$  de los PPSs de las vibrisas, la cual está asociada con un fenómeno parecido a la *resonancia estocástica*. Sin embargo, son necesarios más estudios que demuestren que dicha forma de U-invertida en la RSR se debe a la resonancia estocástica.

Después de una inspección de las gráficas de la Figura 14B, observamos que las intensidades de FRO (ruido de entrada) necesaria para producir un aumento óptimo de la RSR de los PPSs fueron diferentes en algunos animales. En algunos de ellos, la cantidad de FRO en mW de potencia óptica, para producir una respuesta óptima estuvo por debajo de 0.2 mW, pero en otros por arriba de 0.5 mW. Podríamos atribuir estas diferencias de la FRO óptima, a las diferencias individuales en el estado de excitabilidad de las neuronas de la corteza de los barriles durante el registro de su respectiva actividad eléctrica neuronal. Dichas diferencias en la excitabilidad podrían deberse al estado de anestesia, al nivel de transparencia del tejido neuronal a la luz ruidosa azul aplicada, a la distribución y arquitectura de los árboles dendríticos de neuronas de la corteza de los barriles que expresan ChR2. En estudios previos desarrollados en modelos animales (Manjarrez y cols., 2002, 2003; Flores y cols., 2016) y humanos (Manjarrez y cols., 2007; Mendez-Balbuena y

cols., 2015), observamos este tipo de diferencias en el nivel de ruido intermedio *óptimo* para producir el fenómeno de resonancia estocástica de manera diferencial.

Lo más importante de este estudio es que los resultados que obtuvimos conforman el primer paso en el entendimiento del impacto de la fotoestimulación ruidosa optogenética en la RSR de potenciales provocados somatosensoriales en el sistema nervioso central. Además, introducimos por primera vez un método que es capaz de modular el ruido interno de la corteza cerebral de animales transgénicos. Estos resultados nos proporcionan evidencia experimental de que la modulación controlada de la intensidad de ruido neuronal en el cerebro produce un fenómeno parecido a la resonancia estocástica en ratones que expresan la opsina ChR2 sensible a la luz ruidosa azul. Debido a que la activación de los canales ChR2 por pulsos de luz produce cambios controlados en el potencial de membrana de las neuronas que expresan estos canales (Deisseroth, 2015), es concebible que la aplicación de luz *ruidosa* pueda producir cambios de manera aleatoria (estocástica) en el potencial de membrana de dichas neuronas. Por lo tanto, podemos asumir que un posible mecanismo del aumento de la RSR de los PPSs se debe a las acciones convergentes no lineales de un potencial de membrana *aleatorio* (ruido interno) y las entradas sinápticas de la vía somatosensorial de las vibrisas. Esta idea es consistente con la hipótesis de Aihara y cols. (2010), quienes manifiestan que la optimización de la función y/o respuesta de un sistema mediante la aplicación de ruido externo está altamente relacionada con la interacción entre el ruido interno del propio sistema y del ruido externo aplicado. Posiblemente esta hipótesis podríamos validarla si hacemos uso de registros intracelulares en nuestro paradigma experimental en los ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP.

Asimismo, nuestro paradigma experimental de fotoestimulación ruidosa optogenética es útil porque nos permite modular directamente el nivel de ruido neuronal en la corteza cerebral. Debido a que la FRO emplea al ruido para activar neuronas corticales que expresan ChR2, es posible especular que este tipo de estimulación podría emplearse como la estimulación eléctrica transcraneal ruidosa aleatoria (EETRA), para aumentar la excitabilidad cerebral o para el tratamiento de enfermedades psiquiátricas. En 2017, Fettes y cols., evidenciaron que la estimulación magnética o eléctrica transcraneal de la corteza

orbitofrontal (COF) en humanos produce cambios en la sintomatología clínica. Con base en estas observaciones, podrían diseñarse experimentos en modelos animales, en los cuales se emplearía la fotoestimulación ruidosa optogenética para estimular la COF medial para examinar cambios en el aprendizaje de recompensa. Esta idea es consistente con una revisión reciente de Fettes y cols. (2017), quienes mencionaron que las lesiones de la COF medial pueden impedir la habilidad del animal para asociar un estímulo previamente no recompensado con recompensa. No obstante, debemos ser cautelosos cuando comparamos la FRO con la EETRA. Primero, porque los mecanismos fisiológicos de la EETRA en el cerebro humano aún no están claros, a pesar de que es un método poderoso en la clínica y goza de gran popularidad (Antal y cols., 2017). Segundo, porque los mecanismos fisiológicos de la FRO en el humano son completamente desconocidos.

En comparación con la EETRA no invasiva que se emplea en humanos, el uso de la FRO ofrece ciertas ventajas. Primero, las neuronas que expresan ChR2 en animales transgénicos pueden activarse selectivamente por la estimulación ruidosa óptica. Contrario a ello, la EETRA estimula la piel, lo cual produce una activación artefactual de las neuronas del cerebro inervadas por dichas entradas externas del cuero cabelludo. Segundo, sólo las neuronas que expresan ChR2 sensibles a la luz azul pueden activarse por la FRO. En nuestros ratones transgénicos, la mayoría de las neuronas piramidales en las capas IV y V son glutamatérgicas (Prado y cols., 2016). Por consiguiente, podemos activar principalmente estas neuronas selectivamente. Tercero, con la FRO, podemos seleccionar el diámetro de la fibra óptica para controlar el área de la corteza cerebral a estimular con luz azul. De esta manera, podemos controlar la cantidad de ruido aplicado al tejido neuronal solo ajustando la intensidad FRO. Este simple procedimiento nos permite reclutar diferentes grupos neuronales que están activos *ruidosamente*. Además, para intensidades aumentadas de FRO el número de neuronas reclutadas incrementaría, así como sus actividades sinápticas aleatorias sobre las neuronas que producen potenciales provocados sensoriales. Cuarto, en futuros estudios, podríamos expresar canales sensibles a luz ruidosa de alguna magnitud en particular en neuronas del SNC, para explorar los efectos del ruido interno en otras respuestas sensoriales, tanto en preparaciones animales agudas como crónicas.

Sin embargo, nuestro paradigma experimental de FRO también ofrece algunas limitaciones como la técnica de optogenética (Deisseroth, 2015), donde la principal desventaja es que por el momento no puede aplicarse al cerebro humano. Otra desventaja es que, si aumenta la potencia del ruido, la luz podría penetrar profundamente dentro del tejido cortical y la población de células afectadas podría cambiar en su extensión espacial. Dicha dificultad técnica es un problema serio para los estudios en el campo de la optogenética en animales crónicos, en los cuales las poblaciones de células afectadas por la luz pueden cambiar si se emplean diferentes intensidades de luz. No obstante, esto no representa un problema para nuestro estudio dado que la corteza somatosensorial de barriles exhibe una conectividad de gran alcance a lo largo del eje horizontal y vertical (Feldmeyer, 20112). En particular, la conectividad de largo alcance ocurre dentro de las capas corticales. En la corteza de barriles, existen conexiones locales, intralaminares, translaminares y entre columnas corticales. Por tanto, las actividades sinápticas aleatorias de las neuronas reclutadas de las diferentes capas de la corteza cerebral producen un inevitable efecto sobre las neuronas que producen los potenciales provocados sensoriales.

Con base en nuestros resultados, podemos decir que es notable que el efecto tipo resonancia estocástica en los PPSs son conspicuos, y se exhiben independientemente de la naturaleza de las neuronas reclutadas de la corteza de los barriles. Además, podríamos proporcionar una explicación similar para los resultados de la EETRA, en los cuales la profundidad de la extensión espacial de las poblaciones de neuronas estimuladas podría cambiar (Van der Groen y Wenderoth, 2016). Por otro lado, nuestros resultados son consistentes con los estudios relacionados con la resonancia estocástica en la sensación táctil de primates (Medina y cols., 2012), los cuales sugieren que la aplicación de ruido en el cerebro podría emplearse para aumentar la sensación prostética a través de la integración multisensorial de la información táctil. Asimismo, nuestras frecuencias de estimulación estuvieron en el rango de 500 - 600 Hz, las cuales son comparables a las frecuencias empleadas en la EETRA. En este contexto, nuestros resultados son consistentes con la observación de la estimulación con corriente alterna transcraneal (ECST, tACS, por sus siglas en inglés) sobre la corteza somatosensorial primaria en diferentes anchos de banda

permitieron que la estimulación en la onda cerebral alfa (10 - 14 Hz) y gama de alta frecuencia (52-70 Hz) produjeron sensaciones táctiles en la mano contralateral (Feurra y cols., 2011). Aplicamos ruido *Browniano* de alta potencia en el rango de 0 a 1000 Hz porque en estudios previos (Fertonani y cols., 2011) demostraron que la estimulación ruidosa aleatoria transcraneal de alta frecuencia (100 - 640 Hz) en la corteza visual mejoró la función conductual en una tarea visual.

Respecto al tipo de ruido (*Browniano*) que aplicamos a las neuronas en la corteza de los barriles, es posible que otros tipos de ruido podría producir efectos similares. Sería muy interesante explorar los efectos de la FRO usando otros ruidos coloreados versus ruido *Browniano* (Nozaki y cols., 1999). Nuestros resultados sugieren que la transmisión sensorial a través de la corteza cerebral de barriles mejoró porque la fotoestimulación ruidosa optogenética moduló el ruido endógeno de las neuronas somatosensoriales. En este contexto, podríamos explorar los efectos de la FRO en animales transgénicos, en otro tipo de funciones cerebrales como las moduladas por la estimulación con corriente alterna transcraneal, como lo se describió en humanos (Jausovec y cols., 2014). Por otra parte, podríamos explorar los efectos de la FRO bilateral en la inhibición y excitación cortical (Cancelli y cols., 2015). Finalmente, existen estudios teóricos que son consistentes con nuestros resultados, particularmente aquellos en los cuales la adición de ruido en poblaciones de neuronas modeladas (Kawaguchi y cols., 2011) o en neuronas aisladas (Bulsara y cols., 1991) puede aumentar la transmisión de la información sináptica. Lo anterior abre nuevas preguntas en relación al efecto de la fotoestimulación ruidosa optogenética a nivel de la actividad extracelular multiunitaria de poblaciones de neuronas que expresan ChR2.

Interesantemente, encontramos que la fotoestimulación ruidosa optogenética fue capaz de producir actividad eléctrica ruidosa de las neuronas de la corteza somatosensorial en una preparación *in vivo* de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP. Estos resultados muestran que existe un nivel particular de ruido de FRO aumenta la RSR de la actividad multiunitaria producida por la estimulación de las vibrisas. Además, un modelo de neuronas que expresan ChR2 reproduce nuestros resultados experimentales y predice los cambios en

la diversidad del voltaje de membrana que producen perfiles ligeramente diferentes en las formas de U-invertida del disparo neuronal versus la FRO de entrada.

Nuestros resultados sugieren que el ruido generado internamente en el cerebro podría proporcionar a las neuronas la capacidad de mejorar su tasa de disparo en respuesta a entradas sensoriales. Nuestra metodología de la FRO representa una nueva técnica para aplicar ruido a la corteza cerebral. Posiblemente este método podría emplearse para producir mejoramiento en la percepción sensorial, tareas motoras y procesos cognitivos. Estas hipótesis están respaldadas por las técnicas de estimulación ruidosa en el contexto de la teoría de RE (Yamamoto y cols., 2005; Pan y cols., 2008; Pal y cols., 2009; Samoudi y cols., 2012; Lee y cols., 2015; Kim y cols., 2013).

Encontramos que el área de la RSR (de los PEMs de las vibrisas) versus la FRO siguió una forma de U-invertida, lo que sugiere la ocurrencia de un fenómeno parecido a la RE. Es posible que el incremento de la intensidad de la FRO presumiblemente aumenta la apertura de canales iónicos, y, por lo tanto, un aumento global de la conductancia de la membrana.

### **Efecto de la estimulación ruidosa multisensorial en la actividad eléctrica producida por estímulos visuales registrados en los colículos superiores**

Stein y cols (1993) demostraron que en los colículos superiores hay un aumento en la tasa de disparo de neuronas multisensoriales que responden a estímulos multisensoriales si estos coinciden en tiempo y espacio. Además, se sabe que en la actividad eléctrica neuronal *in vivo* es posible observar un alto grado de irregularidad. Y que el disparo de neuronas individuales también puede generarse aleatoriamente. No obstante, la cuestión es si dicha actividad es sólo ruido o una forma eficiente de codificación de la información.

Lugo y cols. (2008) evidenciaron el papel funcional de la estimulación ruidosa en las interacciones visuales-táctiles y auditivas-táctiles en humanos. Ellos demostraron que un estímulo ruidoso visual o auditivo que es exactamente sincronizado con una señal periódica táctil excitatoria que se aplica en la piel, aumenta la representación periférica de esa señal excitatoria. Dichos resultados dan evidencia que durante la integración

multisensorial, el SNC no sólo conjunta continuamente la información obtenida de los sentidos, sino que también actúa directamente sobre esa información modulando la actividad a niveles periféricos. Es decir, que el mismo ruido auditivo o visual puede aumentar la sensibilidad de las respuestas del sistema táctil, visual y propioceptivo ante las señales débiles. Específicamente, que el ruido auditivo efectivo aumenta significativamente las sensaciones táctiles del dedo, disminuyendo los umbrales de contraste visual y luminancia y modificando significativamente los registros de EMG de los músculos de las piernas durante el mantenimiento de la postura. Estos resultados se deben a una activación integrada que promueve las transiciones de sensibilidad para que las señales sean percibidas, transmitidas e integradas.

Interesantemente, la integración multisensorial es un proceso no lineal que conjunta la información de diversos canales sensoriales en ambientes ruidosos y no ruidosos. De la misma manera, múltiples estudios en sistemas sensoriales mencionan el papel *benéfico* de la estimulación ruidosa en sistema no lineales (Mori y Kai, 2002; Manjarrez y cols., 2007, Lugo y cols., 2008; Méndez-Balbuena y cols., 2012, 2015). Y debido a que los sistemas neuronales al ser altamente excitables y no lineales proveen una fuente para poder estudiar dichos fenómenos.

Por primera vez, en los colículos superiores de gatos, se observó que una intensidad intermedia de estimulación ruidosa auditiva y estimulación ruidosa táctil aumentó la amplitud de los PPVs intracolículos. Además, observamos que una intensidad intermedia de estimulación ruidosa auditiva, de estimulación ruidosa táctil y de estimulación combinada auditiva-táctil aumentó el cociente del número de eventos / muestras de la actividad unitaria y multiunitaria asociada a la estimulación visual, que registramos en diferentes profundidades de los colículos superiores. Sin embargo, el mayor efecto de la estimulación ruidosa ocurrió cuando adicionamos de manera conjunta la estimulación visual, auditiva y táctil.

Empleamos tres diferentes protocolos de estimulación ruidosa multisensorial para inducir ruido a las neuronas multisensoriales de los colículos superiores. Asimismo,

incrementamos la intensidad de la estimulación ruidosa multisensorial para aumentar el grado de aleatoriedad del sistema. Con ello, encontramos que en todos los sujetos que analizamos y que en todas las neuronas registradas existe un fenómeno de *facilitación*. Muestra de ello es la amplificación de la amplitud del PPV versus la estimulación ruidosa de entrada y la amplificación del cociente del número de eventos / muestras versus la estimulación ruidosa de entrada exhibieron una forma de U- invertida

Además, la diversidad de las respuestas entre gatos probablemente se atribuye a la diferente sensibilidad al estímulo visual, al estado de excitabilidad de las neuronas multisensoriales o al estado de anestesia. No obstante, nuestros resultados son consistentes con la noción de que la estimulación ruidosa no siempre actúa como un detrimento de las señales, sino que en ciertos sistemas como los neuronales tiene un efecto *benéfico* sobre la actividad eléctrica neuronal.

Los resultados que obtuvimos en los PPVs intracolículos y de la actividad eléctrica unitaria o multiunitaria, son consistentes con los mecanismos exhibidos por el aumento del disparo de número de neuronas multisensoriales que responden a estímulos multisensoriales estudiados exhaustivamente por Stein, Meredith, Wallace (Stein y cols., 2009, Meredith y Stein, 1993; Wallace y cols., 2000).

Cabe señalar, que la parte novedosa de nuestro estudio es que somos capaces de modular *benéficamente* las respuestas de las neuronas colícolas, ya que a medida a que el nivel de estimulación ruidosa aumenta, se produce un aumento de la respuesta hasta llegar a un nivel máximo (*facilitación* del sistema). Por otro lado, si aumentamos demasiado la intensidad del estímulo ruidoso causamos una especie de *oclusión*. Lo anterior ocurre porque somos sistemas gobernados por umbrales y cualquier cambio aleatorio externo impacta fuertemente en el ambiente interno del sistema, favoreciendo o no la transmisión y codificación de la información.

No obstante, hasta donde hemos revisado en la literatura nuestros resultados documentan la primera descripción explícita del efecto del ruido combinado auditivo-táctil.

Además, complementan los resultados psicofísicos reportados por Manjarrez y cols (2007), Lugo y cols. (2008) y Méndez y cols. (2012, 2015).

## CONCLUSIONES

### *De los resultados de la fotoestimulación ruidosa optogenética*

- I. La aplicación de una intensidad intermedia de FRO en la corteza de los barriles de ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP amplificó significativamente la RSR de los PPSs de vibrisas y los PEMs.
- II. En la RSR no se observan efectos de la FRO en los PPSs y los PEMs de vibrisas.
- III. Los resultados de las simulaciones del modelo de neuronas que expresan ChR2 son consistentes con nuestros resultados experimentales en ratones transgénicos Thy1-ChR2-YFP.
- IV. Con base en los resultados que obtuvimos diseñamos la patente de un generador de ruido optogenético.

### *De los resultados de la fotoestimulación ruidosa auditiva, táctil y auditiva-táctil en las señales visuales de los colículos superiores*

- I. La aplicación de una intensidad intermedia de estimulación ruidosa auditiva y ruidosa táctil de manera independiente amplificó significativamente la amplitud de los PPVs intracoliculares.
- II. Observamos un mayor efecto de la estimulación ruidosa combinada auditiva-táctil en la descarga de las neuronas multisensoriales, con respecto a las respuestas que se

producen por la estimulación ruidosa auditiva y la estimulación ruidosa táctil aplicadas de manera independiente.

- III. Encontramos un mayor número de neuronas multisensoriales en los estratos intermedios, lo cual es consistente con los hallazgos de Stein y cols. (2008, 2011)

***De los resultados de la fotoestimulación ruidosa auditiva, táctil y auditiva-táctil en el componente P100 de los PPVs registrados en la corteza occipital de humanos***

- I. La aplicación de una intensidad intermedia de estimulación ruidosa auditiva y ruidosa táctil de manera independiente amplificó significativamente la amplitud de la onda P100 de los PPVs registrados en la corteza occipital primaria.
- II. De manera consistente con nuestras observaciones en los colículos superiores, en la corteza cerebral occipital observamos un mayor efecto de la estimulación ruidosa combinada auditiva-táctil con respecto a las respuestas que se producen por la estimulación ruidosa auditiva y la estimulación ruidosa táctil aplicadas de manera independiente.
- III. Encontramos que en algunos sujetos la estimulación ruidosa auditiva, táctil y auditiva-táctil produjo una activación global en la corteza cerebral en sentido occipitofrontal.

---

---

## BIBLIOGRAFÍA

---

---

Adair R. (2003) Noise and stochastic resonance in voltage-gated ion channels. PNAS. 100(21):12099-12104.

Benzi R, Sutera A, Vulpiani A. (1981) The mechanism of stochastic resonance. J. Phys. A: Math. Gen. 14: L453-L457.

Brankack J, Klinberg. (1988) Sensory interaction in the superior colliculus of freely moving rat indicated by evoked potentials. Acta Neurobiol. 48:21-32.

Bustamante J, Buno W (1992) Signal transduction and nonlinearities revealed by white-noise in the fast adapting crayfish stretch-receptor. Exp Brain Res. 88: 303-312.

Calvert GA, Bullmore ET, Brammer ML, Campbell R, Williams SC, McGuire PK, Woodruff Pw, Iversen SD, David AS. (1997) Activation of auditory cortex during lipreading. Science. 276(5312):593-6.

Calvert GA. (2001) Crossmodal processing in the human brain: insights from functional neuroimaging studies. Cereb. Cortex. 11:1110–1123.

Calvert G, Spence C, Stein B. (2004) The Handbook of the Multisensory Processes. Massachusetts Institute of Technology. 915 pp.

Chalupa LM, Rhoades RW. (1977) Responses of visual, somatosensory, and auditory neurones in the golden hamster's superior colliculus. *Journal Neurophysiology*. 270(3):595-626.

Clemo HR, Stein BE. (1987) Topographic organization of somatosensory corticotectal influences in cat. *Journal Neurophysiology*. 51:5, 843-858.

Collins JJ, Imhoff TT, Grigg P. (1996) Noise-Enhanced information transmission in rat SA1 cutaneous mechanoreceptor via aperiodic stochastic resonance. *Journal of Neurophysiology*. 76:642-645.

Diba K, Lester HA, Koch C. (2004) Intrinsic noise in cultured hippocampal neurons: experiment and modeling. *J. Neurosci*. 24:9723–9733.

Douglas JK, Wilkens L, Pantazelou E, Moss F. (1993) Noise enhancement of information transfer in crayfish mechanoreceptors by stochastic resonance. *Nature*. 365:337-340.

Edwards SB, Ginsburgh CL, Henkel CK, Stein BE. (1979) Sources of subcortical projections to the superior colliculus in the cat. *J. Comp. Neurol*. 184: 309–330.

Fauve S. and Heslot F. (1983) Stochastic resonance in a bistable system. *Phys. Lett. A*97: 5-7.

Faisal A.A, Selen L.P.J, Wolpert D. (2008) Noise in the nervous system. *Nat Rev Neurosci*. 9(4):292-303.

Fuentes-Santamaria V, Alvarado JC, McHaffie JG, Stein BE. (2009) Axon morphologies and convergence patterns of projections from different sensory-specific cortices of the anterior ectosylvian sulcus onto multisensory neurons in the cat superior colliculus. *Cereb Cortex*. 19:2902–2915.

Gammaitoni L, Häggi P, Jung P, Marchesoni F. (1998) Stochastic resonance. *Rev. of Mod. Phys.* 70:223-287.

Graybiel AM. (1975) Anatomical organization of retinotectal afferents in the cat: an autoradiographic study. *Brain Res.* 96:1-12.

Greenwood PE, Lawrence MW, Russell DF, Neiman A, Moss F. (2000) Stochastic resonance enhances the electrosensory information available to paddlefish for prey capture. *Physical review letters.* 48(20):4773-76.

Godfrey KB, Eglén SJ, Swindale NV (2009) Retinocollicular pathway incorporating axonal and synaptic growth. *PLoS comput biol.* 52(12):e1000600.

Harper DW. (1979) Signal detection analysis of effect of white noise intensity on sensitivity to visual flicker. *Percept. Mot. Skills.* 48: 791–798.

Harting JK, Updyke BV, Van Lieshout DP. (1992) Corticotectal projections in the cat: anterograde transport studies of twenty-five cortical areas. *J. Comp. Neurol.* 324: 379–414.

Holmes NP, Spence C. (2005) Multisensory integration: Space, time & superadditivity. *Curr Biol.* 15(18):762-764.

Huber GC, Crosby EC. (1943) A comparison of the mammalian and reptilian tecta. *J. comp. Neurol.* 78:133-168.

Ivey C, Apkarian AV, Chialvo DR (1998) Noise-induced tuning curve changes in mechanoreceptors. *J Neurophysiol.* 79: 1879-1890.

Jiang ZD, Moore DR, King AJ. (1997) Sources of subcortical projections to the superior colliculus in the ferret. *Brain Res.* 755: 279–292.

Jiang W, Wallace MT, Jiang H, Vaughan JW, Stein BE. (2001) Two cortical areas mediate multisensory integration in superior colliculus neurons. *J Neurophysiol.* 85:506–522.

Kadunce DC, Vaughan JW, Wallace MT, Benedek G, Stein BE. (1997) Mechanisms of within and cross-modality suppression in the superior colliculus. *J. Neurophysiol.* 78: 2834–2847.

Kao CQ, Stein BE, Coulter DA. (1994) Postnatal Development of Excitatory Synaptic Function in Deep Layers of SC.

Katz B, Miledi R. (1970) Membrane noise produced by acetylcholine. *Nature.* 226:962–963.

Kepplinger B, Baran H, Sedlitzky-Semler Brenda, Badawi NG, Erhart H. (2011) Stochastic resonance activity influences serum tryptophan metabolism in healthy human subjects. *International Journal of tryptophan research.* 4:49-60.

King AJ, Schnupp JW, Thompson ID. (1998) Signals from the superficial layers of the superior colliculus enable the development of the auditory space map in the deeper layers. *Journal Neuroscience.* 18(22):9394-408.

Klemen J, Chambers CD. (2012) Current perspectives and methods in studying neural mechanisms of multisensory interactions. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 36:111–133.

Kondoh Y, Morishita H, Arima T, Okuma J, Hasegawa Y (1991a) White-noise analysis of graded response in a wind-sensitive, nonspiking interneuron of the cockroach. *J Comp Physiol A – Sensory neural and behavioral physiol.* 168: 429-443.

Kondoh Y, Arima T, Okuma J, Hasegawa Y (1991b) Filter characteristics of cercal afferents in the cockroach. *J Comp Physiol A – Sensory neural and behavioral physiol.* 169: 653-662.

Kondo Y, Takada M, Tokuno H, Mizuno N. (1994) Single retinal ganglion cells projecting bilaterally to the lateral geniculate nuclei or superior colliculi by way of axon collaterals in the cat. *J. Comp. Neurol.* 346: 119–126.

Long Z, Shao F, Zhang Y, Qin Y. (2004) Noise-enhanced hearing sensitivity. *Physics Letters A.* 323:434-438.

Lugo E, Doti R, Faubert J. (2008) Ubiquitous crossmodal stochastic resonance in humans: auditory noise facilitates tactile, visual and proprioceptive sensations. *PLoS ONE* 3(8):e2860.

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

Manjarrez E, Rojas-Piloni G, Pérez H, Méndez I, Hernández-Paxtipan Z, Flores A. (2002b) Stochastic resonance in the spinal cord and somatosensory cortex of the cat. *Proceedings of the SPIE.* 5110: 102-113.

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. *J. Neurosci.* 23:1997–2001.

Manjarrez E, Mendez I, Martinez L, Flores A, Mirasso CR. (2007) Effects of auditory noise on the psychophysical detection of visual signals: Cross-modal stochastic resonance. *Neuroscience Letters.* 415:231–236.

Marchiafava PL, Pepeu GC. (1966) Electrophysiological study of tectal responses to optic nerve volley. *Arch. ital. Biol.* 104:406-420.

Martínez L, Pérez T, Mirasso CR, Manjarrez E (2007) Stochastic resonanc in the motor system: Effects of noise on the monosynaptic reflex pathway of the cat spinal cord. *J Neurophysiol* 97:4007– 4016.

May PJ. (2006) The mammalian superior colliculus: laminar structure and connections. *Progress in Brain Reserch.* 51:321-78.

McDonnell MD, Abbott D. (2009) What is stochastic resonance? Definitions, misconceptions, debates, and its relevance to biology. *PLoS Comput Biol.* 5(5):1-9.

McHaffie JG, Kao CQ, Stein BE (1989) Nociceptive neurons in rat superior colliculus: Response proprieties, topography, and functional implications. *J. Neurosci.* 62:510-525.

Méndez I. (2005) Resonancia estocástica sensorial y multisensorial en los potenciales provocados por estímulos táctiles, visuales y auditivos en el gato y en el humano. Tesis de Doctorado. Instituto de Fisiología BUAP.

Méndez-Balbuena I, Manjarrez E, Schulte-Monting J, Huethe F, Tapia JA, Hepp-Reymond MC, Kristeva R. (2012) Improved sensorimotor performance via stochastic resonance. *Journal of Neuroscience.* 32: 12612-12618.

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 amplitude of visual evoked potentials: multisensory stochastic resonance. *J Neurophysiol*, 114(4), 2132-2143.

Meredith MA, Stein BE. (1983) Interactions among converging sensory inputs in the superior colliculus. *Science.* 221:389–391.

Meredith, M. A., and Stein, B. E. (1986a). Spatial factors determine the activity of multisensory neurons in cat superior colliculus. *Brain Res.* 365, 350–354.

Meredith, M. A., and Stein, B. E. (1986b). Visual, auditory, and somatosensory convergence on cells in superior colliculus results in multisensory integration. *J. Neurophysiol.* 56, 640–662.

Meredith MA, Stein BE. (1990) The visuotopic component of the multisensory map in the deep laminae of the cat superior colliculus. *Journal of Neuroscience.* 10(11):3727-3742.

Meredith MA, Wallace MT, Stein BE. (1993) Integration of multisensory information in superior colliculus neurons in alert cats. *Soc. Neurosci. Abstr.* 19:768.

Meulders, Colle J. (1966) Influence du cortex visuel sur l'activite evoquee dans les voies optiques sour-corticales. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 20:475- 484.

Middlebrooks JC, Knudsen EI. (1984) A neural code for auditory space in the cat's superior colliculus. *J. Neurosci.* 4: 2621–2634.

Mize, R.R. and Butler, G.D. (1996) Postembedding immunocytochemistry demonstrates directly that both retinal and cortical terminals in the cat superior colliculus are glutamate immunoreactive. *J. Comp. Neurol.* 371: 633–648.

Mori T, Kai S. (2002) Noise-induced entrainment and stochastic resonance in human brain waves. *Phys. Rev. Lett.* 88: 218.

Moschovakis AK, Karabelas AB, Highstein SM (1988) Structure–function relationships in the primate superior colliculus. I. Morphological classification of efferent neurons. *J Neurophysiol.* 60:232–262.

Moss F, Ward L, Sannita W (2004) Stochastic resonance and sensory information processing: a tutorial and review of application. *Clinical Neuro- physiology* 115: 267–281.

O' Donovan MJ. (1999) The origin of spontaneous activity in developing networks of the nervous system. *Current opin Neurobiolo.* 9: 94-104.

Pribram (Ed.), *Origins: Brain and Self Organization*, Elbaum, Hillsdale, NJ, pp. 300–331.

Ross LA, Saint-Amour D, Leavitt VM, Javitt DC, Foxe JJ. (2007) Do you see what I am saying? Exploring visual enhancement of speech comprehension in noisy environments. *Cereb. Cortex.* 17:1147–1153.

Rudolph M, Destexhe A (2001) Correlation detection and resonance in neural systems with distributed noise sources. *Phys Rev Lett.* 16:3662-5

Schwarzkopf DS, Silvanto J, Rees G. (2011) Stochastic resonance effects reveal the neural mechanisms of transcranial magnetic stimulation. *The Journal of Neuroscience.* 31(9):3143-47.

Segundo JP, Vibert JF, Pakdaman K, Stiber M, Diez-Martínez O. (1994) Noise and the neurosciences: a long history, a recent revival and some theory. *Brain and Self Organization*, Laurence Elbaum Associates Publishers, Hillsdale, NJ. pp.300–331.

Simonotto E, Riani M, Seife C, Roberts M, Twitty J, Moss F (1997) Visual perception of the stochastic resonance. *Physical Review Letters.* 78: 1186-9.

Sommer MA, Wurtz RH. (2000) Composition and topographic organization of signals sent from the frontal eye field to the superior colliculus. *Journal Neurophysiology.* 83(4):1979-2001.

Spence C, Driver J (2004) *Crossmodal space and crossmodal attention.* Oxford University Press. 323 pp.

Stein BE, Labos E, Kruger L. (1973) Sequence of changes in properties of neurons of superior colliculus of the kitten during maturation. *J Neurophysiol.* 36:667–679.

Stein, B.E. and Clamann, H.P. (1981) Control of pinna movements and sensorimotor register in cat superior colliculus. *Brain Behav. Evol.*, 19: 180–192.

Stein BE, Meredith MA (1991) Functional organization of the superior colliculus. In A. G. Leventhal (ED.), *The neural bases of visual function* (pp. 85-110). Hampshire, England: Macmillan.

Stein BE, Meredith MA, Wallace MT. (1993). The visually responsive neuron and beyond: multisensory integration in cat and monkey. *Prog. Brain Res.* 95:79–90.

Stein BE, Meredith MA (1993) *The Merging of the Senses*, MIT, Cambridge, MA. *PNAS.* 100(21):12099-12104.

Stein, B.E., Thomas J. Perrault jr, Terrence R. Stanford y Benjamin A. Rowland (2009) Integrative Neuroscience Postnatal experiences influence how the brain integrates information from different senses. *Prog Brain Reserch.* 3:21 1-12

Stein BE, Rowland BA. (2011) Organization and Plasticity in Multisensory Integration: Early and Late Experience Affects its Governing Principles. *Prog Brain Reserch.* 191:145-163.

Tamai, M. & Ogawa, T. (1972) Interaction between cortico-teotal and retino-tectal inputs as revealed by analysis of field potentials of the cat's superior colliculus. *Tohoku J. exp. Med.* 107:127-142.

Tuckwell HC, Jost J (2011) The effects of various spatial distributions of weak noise on rhythmic spiking. *J Comp Neurosci.* 30: 361-371.

Vemuri G, Roy R. (1989) Stochastic resonance in a bistable ring laser. *Physical review*. 39(9):4668-74.

Vilar JM, Rubí JM. (1997) Stochastic multiresonance. *Physical review letters*. 78(15):2882-85.

Volkov EI, Ullner E, Kurths J (2005) Stochastic multiresonance in the coupled relaxation oscillator. *Chaos*.15: 023105

Wallace MN, Fredens K. (1989) Relationship of afferent inputs to the lattice of high NADPH-diaphorase activity in the mouse superior colliculus. *Exp. Brain Res*. 78: 435–445.

Wallace MT, Meredith MA, Stein BE. (1993) Converging influences from visual, auditory, and somatosensory cortices onto output neurons of the superior colliculus. *J Neurophysiol*. 69:1797–1809.

Wallace MT, Stein BE. (1997) Development of multisensory neurons and multisensory integration in cat superior colliculus. *J Neurosci*. 17:2429–2444.

Wallace MT. (2000) Onset of cross-modal synthesis in the neonatal superior is gated by the development of cortical influences. *Journal Neurophysiology*. 83(6):3578-82.

Wallace MT, Perrault TJ, Hairston WD, Stein BE. (2004) Visual experience is necessary for the development of multisensory integration 1. *J Neurosci*. 24:9580–9584.

Wang J, Cao L, Wu DJ. (2003) Stochastic multiresonance for periodically modulated noise in a single-mode laser. *Chin. Phys. Lett*. 20(8):1217-20.

Zeng FA, Fu QJ, Morse R. (2000) Human hearing enhanced by noise. *Brain research interactive*. 869:251-255

---

---

## ANEXOS

---

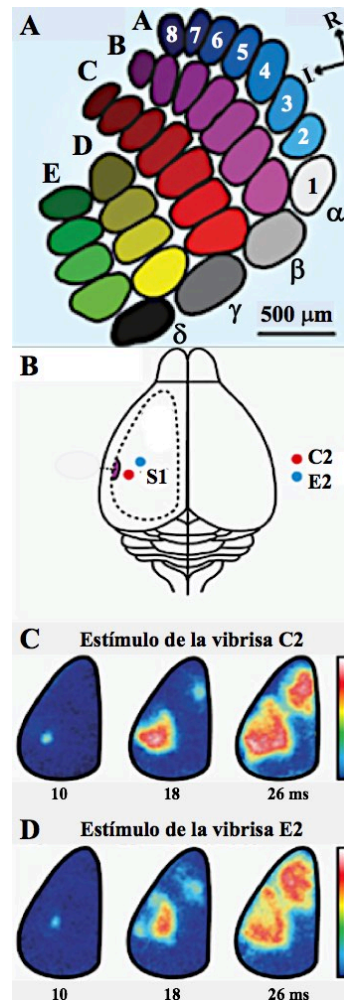
---

### **De la neuroanatomía de la corteza somatosensorial de ratones (vía trigémino-talámico-cortical)**

Las vibrisas son estructuras especializadas que se ubican en el labio superior de algunos mamíferos y dentro de sus funciones principales están las del equilibrio, locomoción y discriminación de superficies. En 1969, Zucker y Welker asignaron una nomenclatura a cada vibrisa: A, B, C, D y E. Además, existen cuatro vibrisas entre los espacios de la fila A y B ( $\alpha$ ), B y C ( $\beta$ ), C y D ( $\gamma$ ) y entre, D y E ( $\delta$ ). En la exploración de superficies, los roedores realizan movimientos de las vibrisas de manera alternada y cíclica con una frecuencia entre 5 y 10 Hz y con una duración entre 1 y 10 s. Cualquier movimiento de retracción o protracción de las vibrisas se integra en las neuronas aferentes primarias del ganglio trigeminal. Cabe señalar que los campos receptivos de las vibrisas tienen una organización somatotópica conservada a través de diferentes relevos de la vía trigémino-talámico-cortical. Las vibrisas de la fila A y B están inervadas por zonas mediales del ganglio, las vibrisas de la fila A y B están inervadas por zonas laterales, las vibrisas más caudales están inervadas por zonas dorsales y las vibrisas rostrales en zonas ventrales del ganglio trigeminal (Zucker y Welker, 1969).

Las células aferentes primarias del ganglio trigeminal tienen sus terminaciones en los núcleos del complejo trigeminal del tallo cerebral. Dichas terminaciones se conocen como barreletes. Estas estructuras están conformadas por columnas celulares que representan a los órganos sensoriales periféricos, las vibrisas. Los barreletes se ubican en la parte ventral del núcleo principal del trigémino. En los roedores, el núcleo trigeminal sensorial principal envía

proyecciones que cruzan la línea media y constituyen el lemnisco trigeminal, que discurre de forma dorsomedial al lemnisco medial. Estas proyecciones ascienden y terminan principalmente en el tálamo ventrobasal medial y en el núcleo talámico posterior. Además, las neuronas de la porción ventral del núcleo trigeminal no sólo a núcleos tálamicos; también al colículo superior o al núcleo pretectal mesencefálico. Posteriormente, la información de los barreloides del tálamo se proyecta a la corteza somatosensorial primaria a una región denominada área de barriles (Figura 52) (Bosman, 2011).



**Figura 53** | A. Nomenclatura de las vibrisas en ratones B. Barriles de la corteza somatosensorial correspondientes a la estimulación de las vibrisas C2 y C3. C,D. Activación de la corteza cerebral durante la estimulación de las vibrisas C2 y C3. (Modificado de Bosman, 2011).

## **De la neuroanatomía de la vía visual**

El sistema visual nos permite percibir el mundo mediante imágenes ópticas que se proyectan sobre una capa de células sensibles a la luz, este sistema se encuentra provisto de por receptor, un sistema conductor y una serie de reflejos de ajuste que nos permiten mejorar la calidad de la imagen percibida.

La vía visual se compone de un receptor formado por las células fotorreceptoras (conos y bastones), un sistema de conducción y modulador de las señales, integrado por tres relevos neuronales, y un área para el procesamiento de información representada por las áreas corticales.

La retina por su estructura y desarrollo se describe como parte del sistema nervioso central, las células que constituyen son:

- I. Células pigmentarias aplanadas y poliédricas que forman un epitelio continuo, cuya membrana basal está en contacto con la membrana de Bruch de la coroides, estas células continen gránulos de melanina en el citoplasma. Por su polo apical exhiben microvellosidades que están en contacto con los fotorreceptores y participan activamente en el ciclo de renovación de los pigmentos visuales mediante fagocitosis. Además, la melanina tiene propiedades antireflejantes.
- II. Células fotorreceptoras, conos y bastones, poseen seis partes comunes: segmento externo, segmento interno, fibra externa, fibra interna, zona terminal y soma. El segmento externo, participa en el proceso de fototransducción y distingue morfológicamente a los conos de los bastones, posee una serie de sacos discoideos membranosos apilados, en donde se encuentran los pigmentos visuales. La membrana de los bastones es independiente de la membrana de los discos, los sacos son renovados constantemente por el segmento interno y se van desplazando al segmento externo, participan en el proceso de fototransducción, para después ser fagocitados por las células pigmentarias. Los pigmentos visuales están formados por una porción

pequeña que absorbe la luz y una proteína de transmembrana, en los bastones hallamos rodopsina (retinal con opsina) y en los conos encontramos retinal con conopsina, los conos expresan tres tipos de conopsina que da lugar a tres tipos de conos: sensibles al rojo (conos r o L), sensibles al verde (conos v o M) y sensibles al azul (conos a o S). En su segmento interno poseen abundantes mitocondrias y un retículo endoplásmico desarrollado, involucrados en la síntesis de los pigmentos visuales. Por otro lado, la fibra externa está formada por microtúbulos, seguidos de su soma en el que se localiza el núcleo, mientras que la fibra interna posee una longitud aproximada de 10-60  $\mu\text{m}$ . La zona terminal es lo que marca la diferencia entre cada tipo de fotorreceptor y, además presenta la zona de sinapsis con las dendritas de las células horizontales y bipolares mediante invaginaciones. Los conos presentan una superficie extensa y aplanada de sinapsis conocida como pedículo con una sola invaginación, mientras que los bastones presentan una superficie piriforme denominada esférula con dos invaginaciones. La distribución de los fotorreceptores no es simétrica, los bastones son más numerosos (110-125 millones) que los conos (63-68 millones), la fovea está formada por conos exclusivamente, mismos que disminuyen gradualmente al alcanzar la periferia retiniana. Los conos median la visión a color y proporcionan buena resolución espacial y temporal mientras que los bastones, por poseer mayor cantidad de pigmentos fotosensibles, participan en la detección de luces con poca intensidad.

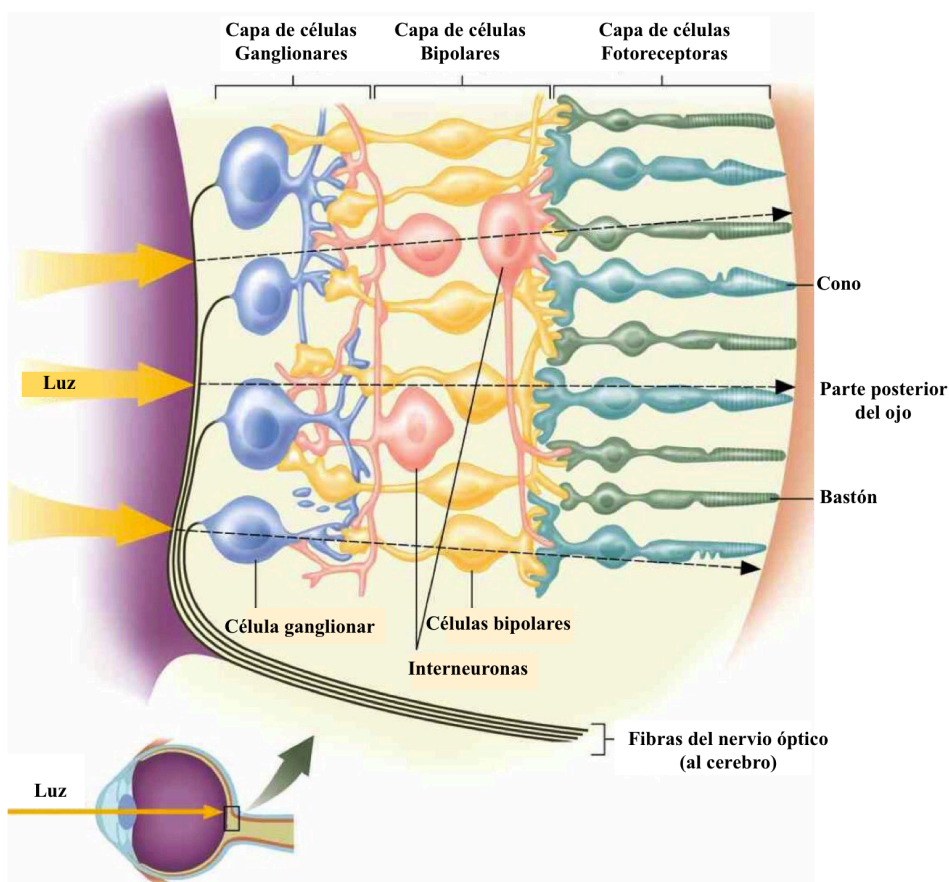
- III. Células bipolares, se encuentran dispuestas radialmente y tienen un soma pequeño de axón corto, se distinguen nueve subtipos, pero se describen dos tipos básicos por sus conexiones con conos y bastones: bipolar cono y bipolar bastón.
  - a. Bipolar cono se clasifica en tres tipos: enanas (hacen sinapsis con conos M o L), cono azul (sinapsis con cono S) y difusas (sinapsis con 10 o más conos, debido a su amplio campo receptivo poseen poca discriminación espacial, median más la luminosidad que el color).
  - b. Bipolar bastón forma sinapsis con varios bastones.
  
- IV. Células ganglionares, son neuronas de gran tamaño que forman sinapsis con células ganglionares y amácrinas, los axones de estas células forman el nervio óptico. Se

distinguen dos tipos de células por su morfología: enanas, representan el 80 % de la población y realizan sinapsis con una sola célula bipolar cono, median la alta resolución de la imagen, la forma y el color; y parasol, representan el 10% y forman sinapsis con células bipolares bastón y células bipolares cono difusas, identifican cambios de iluminación y movimiento. Los axones de estas células ganglionares no están recubiertos de mielina.

- V. Interneuronas, este tipo de células incluye células horizontales y las células amacrinas. Las células horizontales se encuentran en las cercanías de los fotorreceptores y realizan sinapsis con conos, bastones y células bipolares, sus dendritas establecen uniones estrechas entre sí y son interneuronas inhibitorias (utilizan GABA) que producen campos de inactivación cuando se activa un conjunto de fotorreceptores, proporcionando alto contraste y resolución. Por otro lado, las células amacrinas carecen de axón y se ubican horizontalmente entre las células bipolares y las ganglionares, tienen sinapsis con axones de células bipolares y con dendritas de las células ganglionares y otras amacrinas, transmiten señales desde las células bipolares bastón a las células ganglionares y se distinguen ocho diferentes tipos por el de neurotransmisor que manejan.
- VI. Células gliales, de ese tipo celular las más relevantes son las células de Müller, también es posible observar astrocitos y microglía, las cuales se disponen radialmente por casi todo el espesor de la retina.

Los elementos celulares de la retina se disponen en diez capas y se disponen de forma laminar, ellas son: *epitelio pigmentario* (células pigmentarias), *conos y bastones* (segmento externo e interno de los fotorreceptores), *granulosa externa* (soma y fibras de los fotorreceptores), *plexiforme externa* (sinapsis de los fotorreceptores, las células bipolares y las horizontales), *granulosa interna* (somitas de las células horizontales, bipolares y de Müller), *plexiforme interna* (sinapsis de las células bipolares, ganglionares y amacrinas), *células*

*ganglionares, fibras nerviosas* (axones no mielinizados y vasos sanguíneos) y *limitante interna* (límite entre las células de Müller y el cuerpo vítreo) (Figura 54).



**Figura 54| Disposición de los elementos celulares de la retina.**

La zona posterior de la retina presenta un campo oval pigmentado conocido como macula lútea o mancha amarilla, tiene un diámetro de 2-4 mm, dentro de esta área, el grosor de la retina disminuye debido a un desplazamiento de la cadena neuronal, a esta zona se le conoce como fovea central, posee un diámetro de 1-2 mm; la fovea central posee una superficie aún más delgada con un diámetro de 0.2-0.4 mm, conocida como foveóla que se encuentra formada exclusivamente por conos.

La *fóvea central* es la zona de máxima agudeza visual, ya que la luz atraviesa una zona muy delgada de la retina y por su alto contenido en conos que proveen una máxima resolución.

Los axones derivados de las células ganglionares de la retina, salen por la lámina cribosa de la esclera donde forman el disco o papila del nervio óptico, la papila que posee un diámetro de 1.6 mm, esta área carece de fotorreceptores, convirtiéndolo en un punto ciego, finalmente, cuando los axones salen de la retina se recubren con mielina.

La vía de transmisión del estímulo luminoso de los conos inicia con un sinapsis por su zona terminal con una célula bipolar cono, está a su vez se comunica con una célula ganglionar enana (en una vía sin convergencia), para dirigirse al quiasma óptico y de aquí al cuerpo geniculado lateral, estas fibras terminan en sus capas parvocelulares (ganglionares P). Para los bastones, el fotorreceptor bastón hace sinapsis con la célula bipolar cono (el patrón de conexión es convergente, diversos bastones confluyen sobre una célula bipolar, la cual se comunica con una célula amacrina, que también recibe aferencias de células bipolar cono difusas. La vía se dirige hacia las células ganglionares para se dirigen al quiasma óptico y posteriormente, al cuerpo geniculado lateral para terminar sobre las capas magnocelulares (ganglionares M).

El *quiasma óptico* está constituido por los axones del nervio óptico. Se ubica sobre el cuerpo del esfenoides por delante de la silla turca; las fibras retinianas temporales superior e inferior mantiene su organización retinotópica y constituyen las fibras visuales directas del quiasma (no decusan), mientras que las fibras de la retina nasal superior e inferior se decusan pero mantienen la misma posición que en el nervio óptico sin que se produzca ninguna rotación. Las fibras nerviosas salen por la parte posterior del quiasma y se conocen como cintilla óptica. La cintilla óptica es un cordón blanquecino que se desprende del ángulo posterolateral del quiasma y se dirige hacia atrás, contorneando al pedúnculo cerebral correspondiente para terminar fundamentalmente en el cuerpo geniculado lateral, va acompañada de la arteria coroidea anterior.

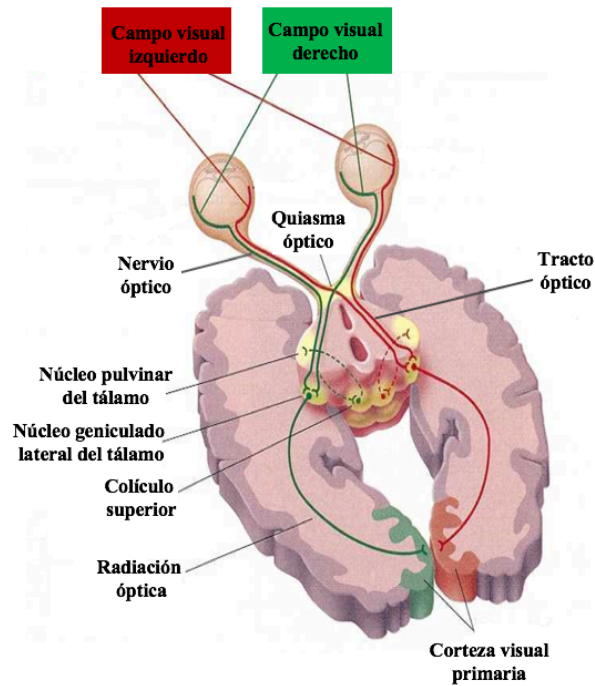
El *cuerpo geniculado lateral* es la estructura terminal de las aferentes de la vía óptica, posee dos porciones: una ventral o pregeniculado y otra dorsal; la porción dorsal recibe la mayor parte de la información óptica. En la estructura del cuerpo geniculado lateral se distinguen seis capas, las capas 1 y 2 son más grandes que todas y se conocen como magnocelulares (capas M), las capas 3-4-5 y 6 son pequeñas y se conocen como parvocelulares (capas P), éste relevo representa la tercera neurona de la vía óptica. Las fibras directas de la información del campo visual que llega al cuerpo se dirigen a las capas 2, 3 y 5, mientras que las fibras cruzadas terminan en las capas 1, 4 y 6; el cuerpo geniculado también recibe aferencias de la formación reticular y de la corteza.

Los axones que salen del cuerpo geniculado lateral llegan a la corteza entorno a la cisura calcarina, mediante una estructura llamada radiación óptica, las fibras salientes discurren por las porciones retro y sublenticulares de la cápsula interna, hacia adelante y hacia afuera, marcando sobre el ventrículo lateral un arco de convexidad anterior, conocida como asa de Meyer, las fibras se dirigen hacia atrás y sobre el asta occipital se divide en dos fascículos, uno superior (cuadrantes retinianos superiores) e inferior (cuadrantes retinianos inferiores). Ambos fascículos alcanzan la cisura calcarina para dirigirse a la corteza visual. Las fibras emergentes del cuerpo geniculado lateral también emiten aferentes que se dirigen hacia el colículo superior.

El *colículo superior* está formado por siete capas alternas de sustancia gris y blanca, este recibe aferencias visuales, auditivas y somatosensoriales. Está relacionado con el núcleo pulvinar talámico, y se relaciona con los movimientos sacádicos e interviene en el reflejo pupilar.

Las *áreas corticales (visuales)* comprenden el área visual primaria (área 17 de Brodman) situada por debajo de la cisura calcarina, el área de asociación visual que además incluye las áreas visual secundaria clásica y el área extraestriada. La corteza visual primaria (V1), se encuentra debajo de la cisura calcarina, posee una capa 4 (granular interna) muy desarrollada que presenta grandes abundantes cantidad de fibras mielinizadas que se observan por tinción y reciben el nombre de “estría de Gennari”, que le da el nombre alternativo de

área “estriada”. La capa 4 puede subdividirse en cuatro subcapas y recibe aferencias del cuerpo geniculado lateral provenientes de las capas P, que terminan en las subcapas 2 y 3. La información visual que llega a la capa 4 se distribuyen hacia capas infragranulares y supragranulares. Las capas supragranulares piramidales proyectan hacia otra áreas, principalmente a la corteza visual secundaria, mientras las infragranulares proyectan hacia centros visuales subcorticales, como el colículo superior y el cuerpo geniculado lateral. Por las características de sus campos receptivos y sus conexiones, se reconocen dos tipos celulares: simples (reciben aferencia de tres o más neuronas del cuerpo geniculado lateral, su campo receptor tiene una zona activa y otra desactivada separada por una línea, la orientación y posición del estímulo son decisivos para su activación) y complejas (reciben aferencias de varias neuronas con la misma preferencia de orientación, su campo receptor no tiene regiones activadas ni desactivadas, responden a un área mucho mayor del campo visual y su respuesta máxima se presenta en respuesta al movimiento de un borde a través del campo receptor). Los campos receptores de las neuronas de la V1 son alargados y responden mejor a líneas, barras, hendiduras, bordes o ángulos que poseen una orientación específica, mientras que los campos receptores de la retina y los del cuerpo geniculado lateral son circulares. Las neuronas corticales responden mejor a la luz móvil que a la luz estacionaria (Hubel, 1963) (Figura 55).



**Figura 55| Vía visual.** La información se transmite de la retina al nervio óptico. El nervio óptico forma el tracto óptico, el cual transmite su información al núcleo geniculado del tálamo y posteriormente a la corteza visual primaria.

Las neuronas con propiedades similares pero dispuestas en columnas diferentes, guardan comunicación horizontal formando así hipercolumnas. El área visual V2 o corteza de asociación visual, se conforma de dos áreas: el área visual secundaria clásica y el área extra estriada. El área visual clásica, comprende el área 18 y 19 de Brodman y reciben aferencias del área 17, el área 18 es también conocida como preestriada por su ubicación anterior al área 17, mientras que el área 19 es conocida como V3; estas dos áreas están involucradas en la respuesta al movimiento de objetos, percepción de color y a las características de las imágenes. El área extraestriada, comprende 30 áreas unicadas en los lóbulos parietal, occipital y temporal.

Estas áreas se organizan en dos sistemas distintos: uno temporal (vía ventral), compuesto por diversas áreas, una de las cuales es el área V4 (involucrada en la percepción espacial tanto del color como de la forma) y la corteza infratemporal (implicada en el

reconocimiento de objetos familiares, como rostros). Este sistema sería el responsable de la visión de alta resolución y del reconocimiento, y uno parietal (vía dorsal), se ubica en las áreas de asociación del lóbulo parietal, aunque también incluye el área temporal media o V5, este sistema parece estar relacionado con la percepción de los aspectos espaciales de la visión, como los movimientos, y de las relaciones de las posiciones de los objetos en la escena visual. Aunque ambas áreas reciben aferencias de las vías P y M del cuerpo geniculado lateral, el sistema temporal recibe mayor aferencia de la vía P, mientras que el sistema parietal recibe conexiones mayoritarias de la vía M.

## **Audición**

La audición juega un papel importante en nuestra vida diaria. Si no somos capaces de observar un objeto, podemos detectarlo a través del sonido que produce. El sonido es un conjunto de variaciones audibles en la presión del aire (compresión y descompresión), resultantes del movimiento molecular. Diversas fuentes de sonido producen variaciones en la presión del aire de manera periódica. Dichas variaciones las podemos cuantificar en términos de su frecuencia y de su intensidad.

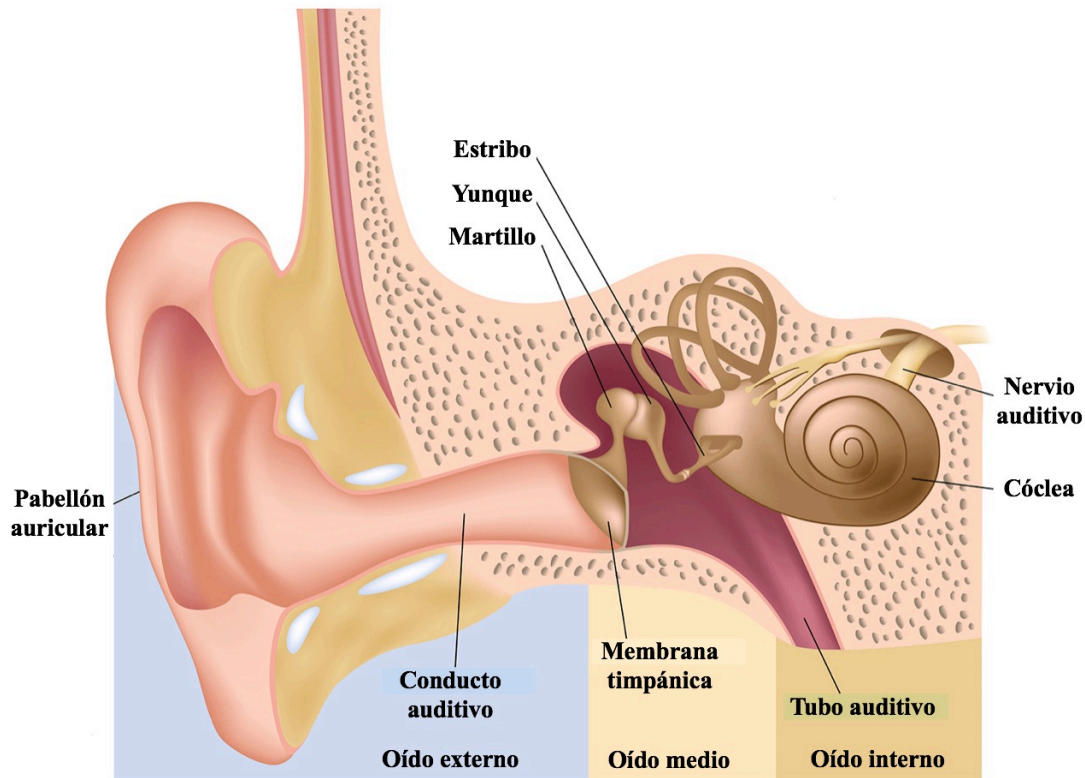
La *frecuencia* del sonido es el número de ciclos (compresión y descompresión del aire) por segundo. Un ciclo de sonido es la distancia entre regiones sucesivas de *compresión de aire*, y se expresa en Hz. Nuestro sistema auditivo responde a ondas de presión en el rango de 20 Hz – 20 kHz. Además, percibimos un tono como *alto* o *bajo*, de acuerdo a su frecuencia.

La *intensidad* del sonido es la diferencia de la compresión y descompresión del aire. La intensidad del sonido determina el *volumen* que percibimos, de tal manera que, un sonido alto tiene intensidades de volumen muy altos.

## **Estructuras anatómicas de la vía auditiva**

Las ondas sonoras llegan a la púa y se propagan por el canal auditivo hasta la membrana timpánica (oído externo). Posteriormente, la membrana timpánica, la cual es adyacente al martillo, mueve al yunque y al estribo (oído medio). La porción aplanada del éste último se

mueve dentro y fuera, como un pistón, hacia la ventana oval de la cóclea, produciéndose la transducción mecánico-eléctrica del sonido y transmitiéndose la información eléctrica a través del nervio auditivo (oído interno) (Figura X).



**Figura 56| Esquema de la división del oído.** El oído externo se conforma del pabellón auricular (pina) y el conducto auditivo. El oído medio se conforma por la membrana timpánica y los huesecillos: martillo, yunque y estribo. El oído interno corresponde al vestíbulo y la cóclea, así como, el nervio auditivo que transmite la información eléctrica auditiva hasta la corteza cerebral auditiva.

Existe un reflejo asociado al conjunto de huesecillos del oído medio, conocido como *reflejo de atenuación*. En este participan el músculo tensor del tímpano y el músculo estapedio. Cuando estos músculos se contraen, el conjunto de huesecillos adquiere mayor rigidez y la conducción del sonido al oído interno disminuye significativamente. La atenuación del sonido es mucho mayor a bajas frecuencias que a altas frecuencias.

Además, se han atribuido varias funciones para el reflejo de atenuación, una de ellas es la adaptación del oído al sonido continuo de alta intensidad. Los sonidos altos que saturan la respuesta de los receptores del oído interno pueden reducirse por abajo del nivel de saturación, y con ello, se incrementa el rango de audición. Por otra parte, otra función es la de proteger al oído interno de sonidos altos que podrían ser dañinos. Desafortunadamente, el reflejo de atenuación tiene un retraso de 50-10 ms (tiempo que el sonido alcanza el oído), por lo cual no proporciona mucha protección a sonidos de alta intensidad, transmitiendo esta vibración a la cóclea.

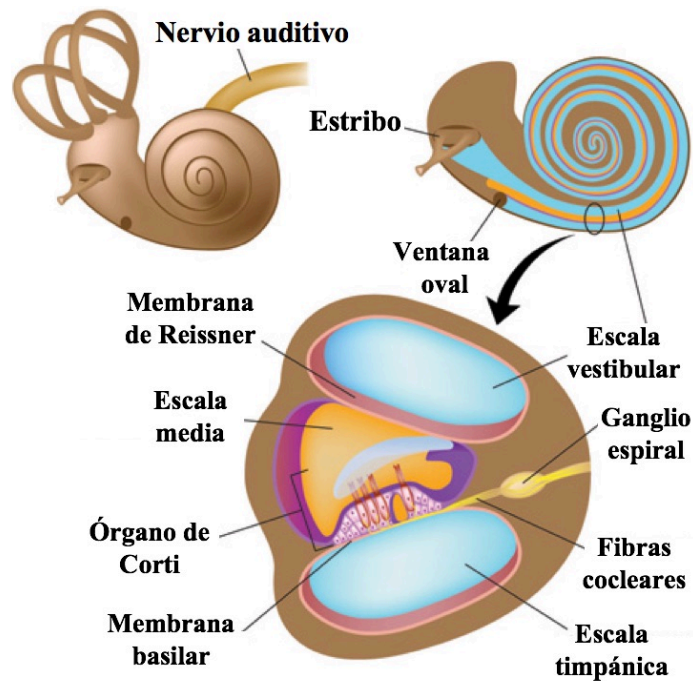
Debido a que dicho reflejo suprime las bajas frecuencias, esto tiende hacer que los sonidos de alta frecuencia sean más fáciles de distinguir en un ambiente con ruido de baja frecuencia. Esta capacidad nos permite tener una mejor comprensión del habla en ambientes ruidosos, en comparación a la ausencia de dicho reflejo. De esta manera, las vibraciones sonoras se transmiten al fluido de la cóclea.

### ***La cóclea***

La cóclea es una estructura en forma de espiral que se divide en tres cámaras: la *escala vestibular*, la *escala media* y la *escala timpánica*. La membrana de Reissner separa la escala vestibular de la escala media y la membrana basilar separa la escala vestibular de la escala media. Por encima de la membrana basilar está el órgano de Corti, el cual contiene células receptoras auditivas, por encima de este órgano se encuentra la membrana tectorial. A nivel del ápice de la cóclea, la escala media permanece cerrada, y la escala timpánica y vestibular están conectadas por una estructura que se conoce como helicotrema. De esta manera, el líquido de la escala vestibular es igual al de la escala timpánica, y se denomina perilinfa.

La perilinfa tiene un contenido iónico similar al líquido cefalorraquídeo: baja concentración de  $K^+$  (7 mM) y alta concentración de  $Na^+$  (140 mM). Por otra parte, la escala media contiene endolinfa, la cual tiene concentraciones similares al líquido intracelular: alta concentración de  $K^+$  (150 mM) y baja concentración de  $Na^+$  (1 mM). La explicación de dicha

diferencia en las concentraciones de la perilinfa y la endolinfa es la reabsorción de  $\text{Na}^+$  y secreción de  $\text{K}^+$ , que ocurre en la *estria vascularis* (Hochmair y cols., 2014). Debido a la diferencia en la concentración iónica y a la permeabilidad de la membrana de Reissner, la endolinfa tiene un potencial eléctrico de 80 mV, y se conoce como potencial endococlear. Éste potencial es importante porque aumenta la transducción auditiva (Figura X).



**Figura 57| Esquema de la división de la cóclea.** La cóclea es una estructura en forma de espiral compuesta por tres espacios conocidos como: escala vestibular, escala media y escala timpánica. Estos espacios están delimitados por la membrana de Reissner y la membrana basilar. Justo por encima de la membrana basilar se encuentra el Órgano de Corti, el cual contiene los receptores auditivos.

### ***El órgano de Corti***

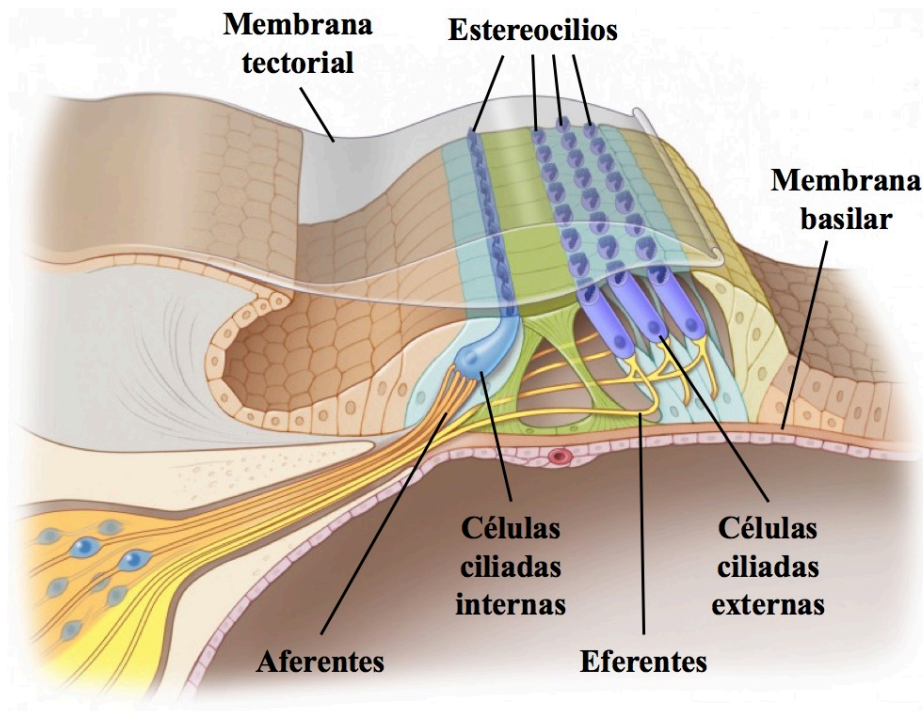
El órgano de Corti es una estructura especializada que se encuentra por encima de la membrana basilar y está cubierto por la membrana tectorial. Además, contiene a las células

ciliadas (células receptoras) y a las células de soporte. Existen dos tipos de células ciliadas: las externas e internas.

Las células ciliadas externas (CCE) son células epiteliales que poseen en su polo apical estereocilios organizados en forma de V. En su porción basal están en contacto con células de soporte y fibras eferentes. En la cóclea humana existen de 15000-20000 células, las cuales están dispuestas de 3 a 5 filas. Por otro lado, las células ciliadas internas (CCI) poseen un polo apical con estereocilios arreglados en 3 o 4 filas. Existen alrededor de 3500 células en cada cóclea y en su porción basal mantienen contacto con células de soporte y fibras aferentes (Hudspeth, 2013; Knipper y cols., 2013).

Las fibras nerviosas aferentes que se relacionan con las CCI, se originan en neuronas provenientes del ganglio espiral. Existen dos tipos de neuronas que hacen contacto con las CCI: tipo I (neuronas bipolares) y tipo II (neuronas pseudomonopolares). Las células del tipo I (95%) tienen procesos mielinizados y sus dendritas contactan en forma radial a una sola CCI. Sin embargo, una célula ciliada interna puede tener contacto con un promedio de 10 neuronas aferentes. Con respecto a las células del tipo II (5%) no están mielinizadas y establecen contacto con varias CCE.

Las fibras nerviosas eferentes provienen del complejo olivar superior (protuberancia del tallo cerebral) y se divide en dos fascículos: *lateral* y *medial*. El fascículo lateral posee fibras amielínicas (colinérgicas y dopaminérgicas) ipsilaterales que provienen de la oliva superior lateral y que hacen sinapsis con las aferentes tipo I del ganglio espiral. El fascículo lateral está compuesto por fibras mielínicas (colinérgicas) contralaterales que se originan en el núcleo ventromedial del cuerpo trapezoide y hacen sinápsis con la porción basal de las CCE (Hudspeth, 2003) (Figura X).



**Figura 58| Esquema del órgano de Corti.** Encima de la membrana basilar se encuentran las células receptoras auditivas: células ciliadas externas y las células ciliadas internas. Los estereocilios de ambos tipos celulares están adheridos a la membrana tectorial, la cual es responsable de su deflexión ante estímulos acústicos.

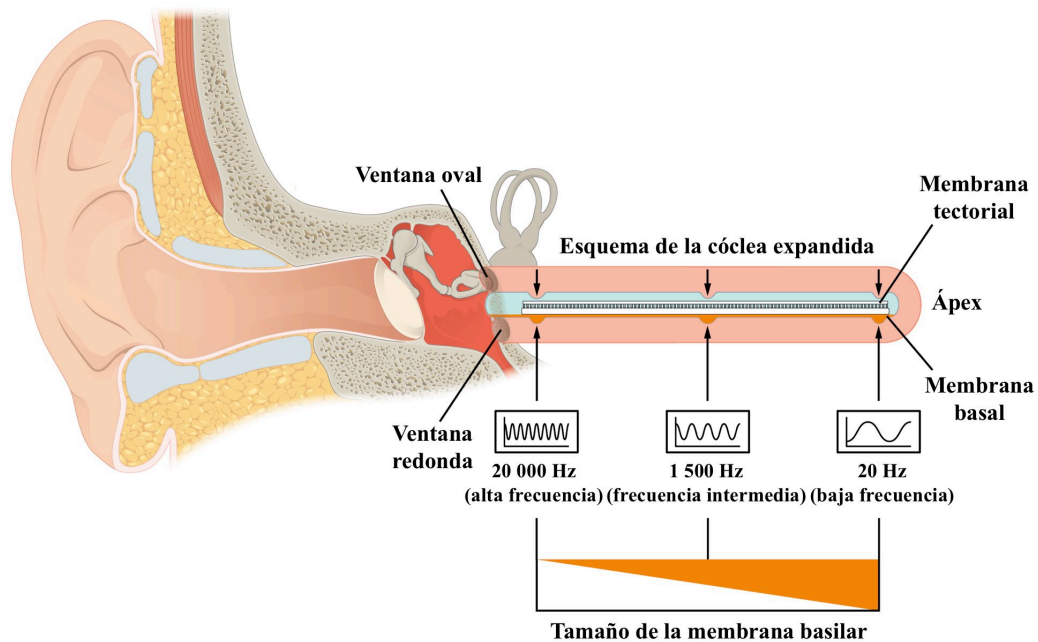
**Secuencia de eventos de la transducción mecanoeléctrica del sonido: de la membrana timpánica a la corteza cerebral auditiva**

Al llegar una onda sonora al pabellón auricular, ésta se propaga por el canal auditivo hasta impactar la membrana timpánica. Dichas vibraciones se transmiten al martillo, al yunque y al estribo de manera uniforme. Los movimientos del estribo sobre la membrana oval producen ondas de presión en la endolinfa de la escala vestibular y la escala timpánica, lo que origina la vibración de la membrana basilar. Lo anterior produce el desplazamiento de anteversión y retroversión de los estereocilios.

Cuando las células ciliadas externas e internas se despolarizan se abren canales de  $K^+$  operados mecánicamente, los cuales se encuentran en la porción apical de los estereocilios. Sin embargo, ocurren eventos diferenciales tanto para las CCE como para las CCI.

Una vez que las CCE se despolarizan por efecto del movimiento de la membrana basilar, éstas reducen su longitud, produciendo un mayor acercamiento de la membrana tectorial con la membrana basilar. Por ello, a las células ciliadas externas se les conoce como un amplificador coclear, debido a que aumentan el efecto del desplazamiento producido por una onda sonora sobre el órgano de Corti (Ruggero y Rich, 1991). Sin embargo, cuando el desplazamiento lateral de los estereocilios genera una despolarización (mediada por  $K^+$ ) de las células ciliadas internas, subsecuentemente, se abren canales de  $Ca^{2+}$ , los cuales permiten la liberación de vesículas sinápticas que contienen el neurotransmisor glutamato (Hackney y Furness, 1995). Lo anterior, produce un aumento en la frecuencia de los trenes de disparo de las fibras aferentes I. Por lo cual, las CCI se consideran las responsables de la transducción mecanoeléctrica en la audición (Hudspeth, 2003; Siegel y Sapru, 2015).

Una característica interesante de la membrana basilar en su respuesta al sonido, radica en las variaciones del tamaño de su base y su ápice. Siendo más gruesa en su porción basal, mientras que en su porción apical es más estrecha. Esto hace que la vibración de la membrana basilar no sea parecida a la vibración de una cuerda, más bien, es parecida a la vibración de una serie de cuerdas. Lo cual explica la sensibilidad de la membrana basilar a ciertas frecuencias en diferentes puntos. Por ejemplo, en la porción apical (ápex) responde a bajas frecuencias, mientras que en la porción basal lo hace a altas frecuencias de estimulación sonora. Lo anterior, constituye el primer mapa tonotópico de la vía auditiva (Hudspeth, 2013). A través de los diversos relevos neuronales que sigue la vía auditiva, se mantiene la organización tonotópica originada en la membrana basilar (Figura X).

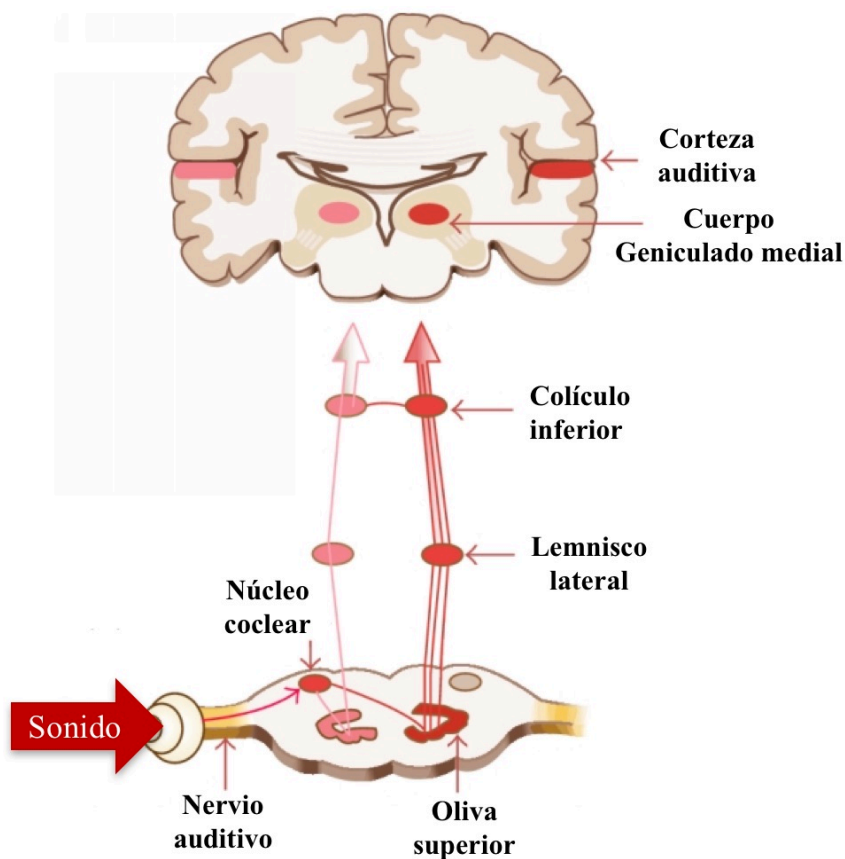


**Figura 59| Esquema de la membrana basilar en la cóclea expandida y su respuesta al sonido.** La base de la membrana basilar responde a ondas sonoras de alta frecuencia, mientras que el ápex responde a ondas de baja frecuencia. Las ondas sonoras viajeras que se producen por diferentes frecuencias de sonido son responsables de la codificación de diferentes tonos.

La vía auditiva se origina en las neuronas del ganglio espiral que hacen contacto con las células ciliadas del órgano de Corti. A través del nervio auditivo la información acústica se transmite a los núcleos cocleares ipsilaterales de tallo cerebral: el núcleo coclear dorsal, núcleo coclear anteroventral y núcleo coclear posteroventral. Justo en este punto de la vía auditiva, ocurren tres subdivisiones, las cuales se conocen como estrías acústicas.

La *estría acústica dorsal* se origina del *núcleo coclear dorsal* y proyecta al *colículo inferior* contralateral. La *estría acústica intermedia* está conformada por axones de neuronas que se encuentra en *núcleo coclear posteroventral*, y proyecta al *núcleo ventral del lemnisco lateral* contralateral, que a su vez proyecta al *colículo inferior*. La *estría acústica ventral* (cuerpo trapezoide) se origina en el *núcleo coclear anteroventral* y la porción ventral del *núcleo coclear posteroventral*, su proyección bilateral ocurre en el *complejo olivar superior*, y posteriormente a los *colículos inferiores*, al *núcleo ventral del lemnisco lateral* y hacia la *cóclea* (vía *olivococlear eferente*).

El *complejo olivar superior* es la primer estructura de la vía auditiva que recibe información binaural. Además, la mayoría de los axones de los núcleos cocleares proyectan hasta el CI bilateralmente, de manera directa o a través de los relevos en el *complejo olivar superior* o en los *núcleos del lemnisco lateral*. A su vez, el *colículo inferior* se divide en: *núcleo central*, *corteza dorsal* y *corteza externa*. El *núcleo central* proyecta hacia el *colículo superior* (región donde se da la integración de la información visuo-auditiva) y hacia *cuerpo geniculado medial del tálamo*. Posteriormente la información acústica se pruyecta hacia la *corteza auditiva primaria* (área 42 de Broadman) a través de las radicaiones acústicas (Gil-Loyzaga y Pujol, 2010; Pollak 2010; Oertel y Doupe, 2013; Siegel y Sapru, 2015) (Figura X).



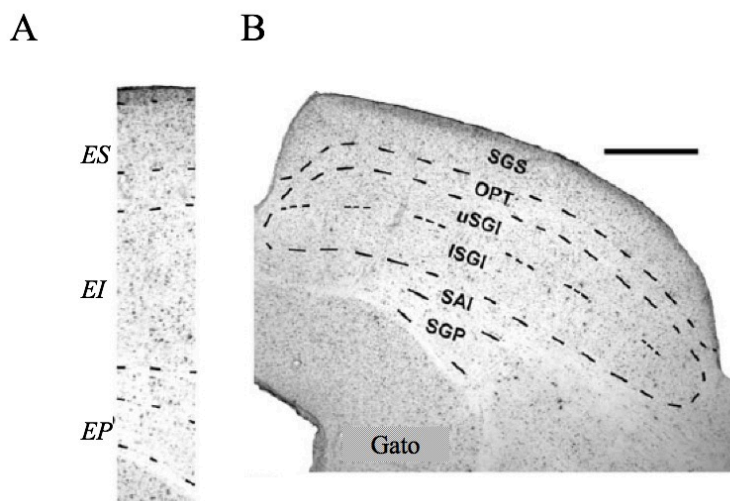
**Figura 60| Esquema de la vía auditiva.** Cuando el sonido llega a la cóclea, éste se transmite por el nervio auditivo hasta el núcleo coclear. Posteriormente al complejo olivar superior contralateral e ipsilateral, después al lemnisco lateral hasta llegar al colículo inferior, enseguida al cuerpo geniculado medial del tálamo y finalmente a la corteza auditiva primaria.

## De la neuroanatomía de los colículos superiores del gato

Los colículos superiores de los mamíferos son dos estructuras que forman parte del *tectum* del mesencéfalo. En cuadrúpedos, se encuentran rostrales a los colículos inferiores y caudales al tálamo. Cada colículo es una estructura laminada, que consiste de siete capas; cuatro de ellas son prominentes capas fibrilares y tres son capas celulares (Huber y Crosby, 1943).

En los mamíferos, existe una clasificación general las capas de los colículos superiores de acuerdo a la profundidad de estas: *estratos superficiales* (~ 0-1300  $\mu\text{m}$ ), *estratos intermedio* (~1300-2200  $\mu\text{m}$ ) y *estratos profundos* (~2200-3400  $\mu\text{m}$ ), a su vez estos estratos se subdividen en: *estrato zonale* (SZ), la cual es la capa más externa y delgada y tiene pocas células, *estrato superficial gris* (SGS), contiene numerosas células pequeñas, *estrato óptico* (SO), éste contiene pocas células y posee un gran número de fibras, incluyendo los axones de las células retinales. Los tres estratos: SZ, SGS y SO conforman la capa superficial de los CS. El *estrato intermedio*

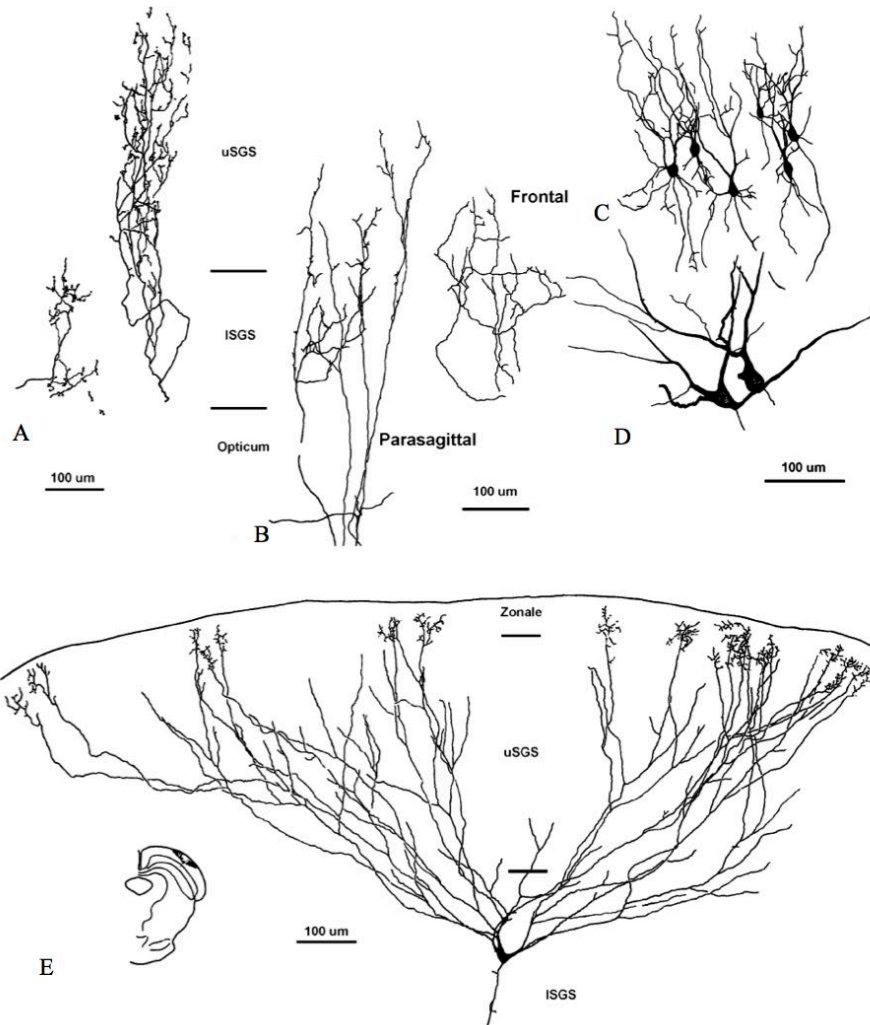
*gris* (SGI) tiene neuronas multipolares. El *estrato intermedio blanco* (SAI) contiene numerosas fibras que discurren desde el eje dorsomedial al ventrolateral. Posteriormente, debajo del SAI se encuentra el *estrato profundo gris* (SGP), el cual tiene un gran número de células. La capa más interna de los colículos superiores es el *estrato profundo blanco* (SAP), el cual, es una delgada capa de fibras adyacentes a la sustancia gris periacueductal (May, 2006) (Figura 54).



**Figura 61| Citoarquitectura de los colículos superiores.** A. Cortes verticales a través de los colículos superiores. B. Corte coronal del colículo superior, donde es posible apreciar los diferentes estratos. La escala de la barra es de 1mm. ES: estratos superficiales, EI: estratos intermedios, EP: estratos profundos. (Modificado de May, 2006).

Algunos estudios donde empleó la tinción de Golgi evidenciaron que en la superficie de los colículos superiores hay *células horizontales* que presumiblemente son interneuronas; *células delgadas* orientadas verticalmente; *células gruesas* las cuales poseen dendritas que se extienden oblicuamente hacia la superficie; *células estrelladas* con múltiples dendritas que no tienen una orientación específica, y finalmente, pequeñas *células marginales* que están localizadas en el borde del SZ. En las capas profundas, se encuentran varios tipos de *células multipolares*; éstas varían en tamaño, y algunas tienen dendritas orientadas en el plano horizontal, y otras, en el vertical. Además, las dendritas de las células multipolares se extienden a través de las capas de los colículos superiores. También, hay pequeñas *células horizontales* que probablemente son interneuronas. Moschovakis y cols., (1988) subdividieron las neuronas de las capas profundas en dos clases: células X y células T. Las células X son grandes y envían menos colaterales que las células T. Una de las características de las células T es la presencia de colaterales que terminan en el CS contralateral. Otro tipo celular descrito son las células L, las cuales tiene dendritas que están verticalmente organizadas y residen principalmente en la superficie de los CS.

Las neuronas de las capas superficiales de los CS en su mayoría son visuales y poseen pequeños campos receptivos. En las capas más profundas las neuronas tienen campos receptivos grandes y responden a estímulos somatosensoriales (Chalupa y Rhoades, 1977). Las neuronas multisensoriales se estudiaron extensivamente en el gato, y frecuentemente son usadas como una fuente de información acerca de la integración multisensorial a nivel de una sola neurona (Figura 55) .



**Figura 62 | Morfología de las neuronas de los colículos superiores.** **A.** Neurona del *estrato gris intermedio* que recibe aferencia de la retina. **B.** Neurona del *estrato gris intermedio* que recibe aferencia de la corteza estriatal. **C.** Neurona que recibe aferencias tectogeniculares. **D.** Neurona que recibe aferencias tectopulvinares. **E.** Neurona multipolar. (Modificado de May, 2006).

### **Conexiones de los colículos superiores**

La capa superficial recibe entradas de las retinas ipsilaterales y contralaterales y de las áreas visuales de la corteza cerebral ipsilateral; por otra parte, envía fibras al cuerpo geniculado lateral ventral y posterior lateral del tálamo, y a capas más profundas de dicho colículo. Las

capas intermedias y profundas, reciben entradas de los sistemas somatosensoriales y auditivos, de áreas corticales no visuales y del colículo superior contralateral; sus mayores eferencias son al tallo cerebral y médula espinal, para contribuir a la generación de los movimientos sacádicos de los ojos (Clemo y Stein, 1987; Sommer y Wurtz, 2000; Stein y Meredith, 1993; Stein y Meredith, 1991; McHaffie, Kao y Stein, 1989) y a regiones posteriores del tálamo (Lund, 1972). Las neuronas de los colículos superiores que reciben aferencias sinápticas de la vía visual y la auditiva se denominan multisensoriales y se han estudiado con gran detalle por el grupo del Dr. Stein (2004).

Las proyecciones retinotectales formadas por los axones de las células ganglionares de la retina en el gato están distribuidas principalmente en el estrato superficial gris y en el estrato óptico (Graybiel, 1975). Estudios de Mize y Butler (1996) evidenciaron que las aferencias retinales en el estrato superficial gris son glutamatérgicas, aunque existe un pequeño grupo de células ganglionares retinotectales GABAérgicas. El estrato superficial gris y el estrato óptico de los CS del gato reciben proyecciones de las áreas corticales 17, 18 y 19 (Harting y cols., 1992). Las células que proveen estas proyecciones residen en la capa V de la corteza cerebral. Tanto las terminales retinales como las corticales son glutamatérgicas. Además, otras dos estructuras corticales que proyectan a los CS son: el surco ectosilviano anterior (AES, por sus siglas en inglés) y el surco suprasilviano lateral rostral (rLS, por sus siglas en inglés). Sin embargo, en el cerebro de primates las estructuras homologas al AES y rLS no han sido identificadas (Clemo y Stein, 1987).

La anatomía de las aferencias auditivas a los CS varía entre especies. No obstante las células que proyectan a los CS pueden residir en el núcleo externo del colículo inferior (CI), en el núcleo del brazo del CI, el núcleo del lemnisco lateral dorsal y el núcleo periolivar anterolateral (Jiang y cols., 1997). La presencia de los mapas auditivos en las capas profundas de los CS en el gato está bien establecidos (Middellebrooks y Knudsen, 1984). Las aferencias auditivas con las aferencias visuales y los mapas auditivos se adaptan a los mapas visuales-motores, cuando los ojos y la cabeza toman diferentes posiciones (Kadunce y cols., 1997). Otra de las actividades que está ligada a los CS es la localización de un sonido por los

movimientos del pabellón auricular en animales con orejas móviles (Stein y Clamann, 1981); dicha actividad es mediada por múltiples vías del CS a las motoneuronas del núcleo facial.

En relación a las conexiones somatosensoriales éstas residen en las capas intermedias y profundas de los colículos superiores (Tamai, 1972; Clemo y Stein, 1991). La extremidad anterior del gato tiene su representación somatotópica en la región caudolateral de cada CS, el cuerpo y la cola se encuentran en la región caudomedial. Además, hay evidencia de que algunas células de la médula espinal proyectan directamente al SGI. Asimismo, el núcleo de la columna dorsal proyecta al SGP. También, el núcleo trigeminal contribuye a la representación somatotópica de la cabeza. La proyección trigeminal provee de información propioceptiva de los músculos extraoculares (Edwards y cols., 1979).

## **Declaración de Helsinki**

DECLARACION DE HELSINKI DE

## LA ASOCIACION MEDICA MUNDIAL

Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos

Adoptada por la

18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964 y enmendada por la

29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre 1975

35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983

41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre 1989

48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, octubre 1996

52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, octubre 2000

Nota de Clarificación del Párrafo 29, agregada por la Asamblea General de la AMM,

Washington 2002

Nota de Clarificación del Párrafo 30, agregada por la Asamblea General de la AMM, Tokio

2004

59ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre 2008

### A. INTRODUCCION

1. La Asociación Médica Mundial (AMM) ha promulgado la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la investigación del material humano y de información identificables. La Declaración debe ser considerada como un todo y un párrafo no debe ser aplicado sin considerar todos los otros párrafos pertinentes.
2. Aunque la Declaración está destinada principalmente a los médicos, la AMM insta a otros participantes en la investigación médica en seres humanos a adoptar estos principios.
3. El deber del médico es promover y velar por la salud de los pacientes, incluidos los que participan en investigación médica. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de ese deber.
4. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico con la fórmula "velar solícitamente y ante todo por la salud de mi paciente", y el Código

Internacional de Ética Médica afirma que: "El médico debe considerar lo mejor para el paciente cuando preste atención médica".

5. El progreso de la medicina se basa en la investigación que, en último término, debe incluir estudios en seres humanos. Las poblaciones que están subrepresentadas en la investigación médica deben tener un acceso apropiado a la participación en la investigación.

6. En investigación médica en seres humanos, el bienestar de la persona que participa en la investigación debe tener siempre primacía sobre todos los otros intereses.

7. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es comprender las causas, evolución y efectos de las enfermedades y mejorar las intervenciones preventivas, diagnósticas y terapéuticas (métodos, procedimientos y tratamientos). Incluso, las mejores intervenciones actuales deben ser evaluadas continuamente a través de la investigación para que sean seguras, eficaces, efectivas, accesibles y de calidad.

8. En la práctica de la medicina y de la investigación médica, la mayoría de las intervenciones implican algunos riesgos y costos.

9. La investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales. Algunas poblaciones sometidas a la investigación son particularmente vulnerables y necesitan protección especial. Estas incluyen a los que no pueden otorgar o rechazar el consentimiento por sí mismos y a los que pueden ser vulnerables a coerción o influencia indebida.

10. Los médicos deben considerar las normas y estándares éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que las normas y estándares internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico nacional o internacional disminuya o elimine cualquiera medida de protección para las personas que participan en la investigación establecida en esta Declaración.

## B. PRINCIPIOS PARA TODA INVESTIGACION MEDICA

11. En la investigación médica, es deber del médico protegerla vida, la salud, la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en investigación.

12. La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.

13. Al realizar una investigación médica, hay que prestar atención adecuada a los factores que puedan dañar el medio ambiente.

14. El proyecto y el método de todo estudio en seres humanos debe describirse claramente en un protocolo de investigación. Este debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso y debe indicar cómo se han considerado los principios enunciados en esta Declaración. El protocolo debe incluir información sobre financiamiento, patrocinadores, afiliaciones institucionales, otros posibles conflictos de interés e incentivos para las personas del estudio y estipulaciones para tratar o compensar a las personas que han sufrido daños como consecuencia de su participación en la investigación. El protocolo debe describir los arreglos para el acceso después del ensayo a intervenciones identificadas como beneficiosas en el estudio o el acceso a otra atención o beneficios apropiadas.

15. El protocolo de la investigación debe enviarse, para consideración, comentario, consejo y aprobación, a un comité de ética de investigación antes de comenzar el estudio. Este comité debe ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia indebida. El comité debe considerar las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación, como también las normas internacionales vigentes, pero no se debe permitir que éstas disminuyan o eliminen ninguna de las protecciones para las personas que

participan en la investigación establecidas en esta Declaración. El comité tiene el derecho de controlar los ensayos en curso. El investigador tiene la obligación de proporcionar información del control al comité, en especial sobre todo incidente adverso grave. No se debe hacer ningún cambio en el protocolo sin la consideración y aprobación del comité.

16. La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo sólo por personas con la formación y calificaciones científicas apropiadas. La investigación en pacientes o voluntarios sanos necesita la supervisión de un médico u otro profesional de la salud competente y calificado apropiadamente. La responsabilidad de la protección de las personas que toman parte en la investigación debe recaer siempre en un médico u otro profesional de la salud y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento.

17. La investigación médica en una población o comunidad con desventajas o vulnerable sólo se justifica si la investigación responde a las necesidades y prioridades de salud de esta población o comunidad y si existen posibilidades razonables de que la población o comunidad, sobre la que la investigación se realiza, podrá beneficiarse de sus resultados.

18. Todo proyecto de investigación médica en seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa comparación de los riesgos y los costos para las personas y las comunidades que participan en la investigación, en comparación con los beneficios previsibles para ellos y para otras personas o comunidades afectadas por la enfermedad que se investiga.

19. Todo ensayo clínico debe ser inscrito en una base de datos disponible al público antes de aceptar a la primera persona.

20. Los médicos no deben participaren estudios de investigación en seres humanos a menos de que estén seguros de que los riesgos inherentes han sido adecuadamente evaluados y de que es posible hacerles frente de manera satisfactoria. Deben suspender inmediatamente el experimento en marcha si observan que los riesgos que implican son más importantes que los beneficios esperados o si existen pruebas concluyentes de resultados positivos o beneficiosos.

21. La investigación médica en seres humanos sólo debe realizarse cuando la importancia de su objetivo es mayor que el riesgo inherente y los costos para la persona que participa en la investigación.

22. La participación de personas competentes en la investigación médica debe ser voluntaria. Aunque puede ser apropiado consultar a familiares o líderes de la comunidad, ninguna persona competente debe ser incluida en un estudio, a menos que ella acepte libremente.

23. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de la persona que participa en la investigación y la confidencialidad de su información personal y para reducir al mínimo las consecuencias de la investigación sobre su integridad física, mental y social.

24. En la investigación médica en seres humanos competentes, cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento y todo otro aspecto pertinente de la investigación. La persona potencial debe ser informada del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Se debe prestar especial atención a las necesidades específicas de información de cada individuo potencial, como también a los métodos utilizados para entregar la información.

Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico u otra persona calificada apropiadamente debe pedir entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede otorgar por escrito, el proceso para lograrlo debe ser documentado y atestiguado formalmente.

25. Para la investigación médica en que se utilice material o datos humanos identificables, el médico debe pedir normalmente el consentimiento para la recolección, análisis, almacenamiento y reutilización. Podrá haber situaciones en las que será imposible o impracticable obtener el consentimiento para dicha investigación o podría ser una amenaza

para su validez. En esta situación, la investigación sólo puede ser realizada después de ser considerada y aprobada por un comité de ética de investigación.

26. Al pedir el consentimiento informado para la participación en la investigación, el médico debe poner especial cuidado cuando el individuo potencial está vinculado con él por una relación de dependencia o si consiente bajo presión. En una situación así, el consentimiento informado debe ser pedido por una persona calificada adecuadamente y que nada tenga que ver con aquella relación.

27. Cuando el individuo potencial sea incapaz, el médico debe pedir el consentimiento informado del representante legal. Estas personas no deben ser incluidas en la investigación que no tenga posibilidades de beneficio para ellas, a menos que ésta tenga como objetivo promover la salud de la población representada por el individuo potencial y esta investigación no puede realizarse en personas competentes y la investigación implica sólo un riesgo y costo mínimos.

28. Si un individuo potencial que participa en la investigación considerado incompetente es capaz de dar su asentimiento a participar o no en la investigación, el médico debe pedirlo, además del consentimiento del representante legal. El desacuerdo del individuo potencial debe ser respetado.

29. La investigación en individuos que no son capaces física o mentalmente de otorgar consentimiento, por ejemplo los pacientes inconscientes, se puede realizar sólo si la condición física/mental que impide otorgar el consentimiento informado es una característica necesaria de la población investigada. En estas circunstancias, el médico debe pedir el consentimiento informado al representante legal. Si dicho representante no está disponible y si no se puede retrasar la investigación, el estudio puede llevarse a cabo sin consentimiento informado, siempre que las razones específicas para incluir a individuos con una enfermedad que no les permite otorgar consentimiento informado hayan sido estipuladas en el protocolo de la investigación y el estudio haya sido aprobado por un comité de ética de investigación. El

consentimiento para mantenerse en la investigación debe obtenerse a la brevedad posible del individuo o de un representante legal.

30. Los autores, directores y editores todos tienen obligaciones éticas con respecto a la publicación de los resultados de su investigación. Los autores tienen el deber de tener a la disposición del público los resultados de su investigación en seres humanos y son responsables de la integridad y exactitud de sus informes. Deben aceptar las normas éticas de entrega de información. Se deben publicar tanto los resultados negativos e inconclusos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y conflictos de intereses. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

### C. PRINCIPIOS APLICABLES CUANDO LA INVESTIGACION MEDICA SE COMBINA CON LA ATENCION MEDICA

31. El médico puede combinar la investigación médica con la atención médica, sólo en la medida en que tal investigación acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico y si el médico tiene buenas razones para creer que la participación en el estudio no afectará de manera adversa la salud de los pacientes que toman parte en la investigación.

32. Los posibles beneficios, riesgos, costos y eficacia de toda intervención nueva deben ser evaluados mediante su comparación con la mejor intervención probada existente, excepto en las siguientes circunstancias:

- El uso de un placebo, o ningún tratamiento, es aceptable en estudios para los que no hay una intervención probada existente.
- Cuando por razones metodológicas, científicas y apremiantes, el uso de un placebo es necesario para determinar la eficacia y la seguridad de

una intervención que no implique un riesgo, efectos adversos graves o daño irreversible para los pacientes que reciben el placebo o ningún tratamiento. Se debe tener muchísimo cuidado para evitar abusar de esta opción.

33. Al final de la investigación, todos los pacientes que participan en el estudio tienen derecho a ser informados sobre sus resultados y compartir cualquier beneficio, por ejemplo, acceso a intervenciones identificadas como beneficiosas en el estudio o a otra atención apropiada o beneficios.

34. El médico debe informar cabalmente al paciente los aspectos de la atención que tienen relación con la investigación. La negativa del paciente a participar en una investigación o su decisión de retirarse nunca debe perturbar la relación médico-paciente.

35. Cuando en la atención de un enfermo las intervenciones probadas han resultado ineficaces o no existen, el médico, después de pedir consejo de experto, con el consentimiento informado del paciente o de un representante legal autorizado, puede permitirse usar intervenciones no comprobadas, si, a su juicio, ello da alguna esperanza de salvar la vida, restituir la salud o aliviar el sufrimiento. Siempre que sea posible, tales intervenciones deben ser investigadas a fin de evaluar su seguridad y eficacia. En todos los casos, esa información nueva debe ser registrada y, cuando sea oportuno, puesta a disposición del público.

## Carta de Consentimiento Informado

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Puebla de Zaragoza a        de        de 2016

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Por medio de este documento, yo \_\_\_\_\_ consiento y acepto participar en el proyecto de investigación titulado: “EFECTO DEL RUIDO COMBINADO AUDITIVO-TÁCTIL SOBRE LOS POTENCIALES PROVOCADOS VISUALES”.

Se me ha informado que el objetivo de este estudio es evaluar, por medio de un EEG, la propagación de ondas en el humano. Se me ha explicado que mi participación consiste en realizarme una prueba psicofísica mientras se obtienen los registros EEG.

Declaro que se me ha informado claramente que el estudio de EEG y las pruebas cognitivas en las que participaré son inocuas y no presentan riesgos para la salud. Además, declaro que acudo a este estudio por voluntad propia sin que medie ningún incentivo material o monetario.

El investigador principal se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo en el desarrollo del protocolo, así como responder a cualquier pregunta y aclararme cualquier duda que plantee a cerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, así como de cualquier otro asunto relacionado con la investigación.

El investigador principal me ha dado seguridades que los datos relacionados con mi persona serán manejados en forma confidencial y que en ningún momento se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio. También se ha comprometido a

proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio aunque esta pudiera hacerme cambiar de parecer con respecto a mi participación en el mismo.

Finalmente, entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello implique u ocasione algún tipo de molestia.

---

Nombre y firma del paciente

---

Nombre y firma del  
investigador principal

---

Nombre y firma de testigo

---

Nombre y firma de testigo

## Cuestionario

# CUESTIONARIO

Nombre:

Sexo:

Edad:

Fecha:

### Preguntas previas

1. ¿Ha consumido bebidas alcohólicas en las últimas 24 horas? (de ser sí, anote hace cuántas horas)
2. ¿Ha consumido café o té en las últimas 24 horas? (de ser sí, anote hace cuántas horas)
3. ¿Padece de alguna enfermedad crónica (diabetes, hipertensión, epilepsia, etc.)?
4. ¿Padece de alguna enfermedad aguda en este momento (gripa, contusiones, infecciones, etc.)?
5. ¿Consume algún fármaco en este momento? ¿Cuál y cuál es la dosis?
6. ¿Padece de migrañas? ¿Qué tan seguido?
7. ¿Había usted colaborado como participante en alguna investigación similar anteriormente?

### Preguntas posteriores

8. ¿Se sintió incómodo en algún momento antes, durante o después del protocolo?
9. ¿Sintió alguna molestia en algún momento antes, durante o después del protocolo?
10. Comentarios:

---

---

## ARTÍCULOS DERIVADOS DEL TRABAJO DE TESIS

---

---

- I. Effect of mechanical tactile noise on amplitude of visual evoked potentials: multisensory stochastic resonance (2015). *J Neurophysiol.* 114: 2132–2143. (Métodos)
- II. Brownian optogenetic-noise-photostimulation in the brain amplifies somatosensory-evoked field potentials (2017). *Front Neurosci.* 11: 464. (Resultados)
- III. Optogenetic noise-photostimulation on the brain increases somatosensory spike firing responses (2018). *Neurosci Lett.* 664: 51-57. (Resultados)
- IV. Patente: Generador de ruido optogenético (2017). IMPI. (Métodos)