



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

# **DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE LA CORTEZA AUDITIVA EN LOS CAMBIOS INDUCIDOS POR ESTIMULACIÓN AUDITIVA EN EL PATRÓN ELECTROENCEFALOGRÁFICO DE SUPRESIÓN CORTICAL (CS)**

**Manuel David Suárez Carvajal**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina, Departamento de Ciencias Fisiológicas  
Bogotá, Colombia

2019



# **DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE LA CORTEZA AUDITIVA EN LOS CAMBIOS INDUCIDOS POR ESTIMULACIÓN AUDITIVA EN EL PATRÓN ELECTROENCEFALOGRÁFICO DE SUPRESIÓN CORTICAL (CS)**

**Manuel David Suárez Carvajal**

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

**Magister en Fisiología**

Director:

Dr. Manuel Joaquín Rojas Barreto DVM. MSc.

Línea de Investigación:

Fisiología de los estados de inconciencia

Grupo de Investigación:

Control genético en salud animal

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina, Departamento de Ciencias Fisiológicas

Bogotá, Colombia

2019



*A mis padres, a mis hermanos y a mi abuela*

*A Elma, mi compañera de vida*

*In memoriam:*

*Erick Rodrigo Martínez Mojica*



## **Agradecimientos**

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a todas las personas que me acompañaron durante el desarrollo de este trabajo y durante mis inicios en el área de Fisiología. A mis padres Ciro y Yolanda que siempre me apoyaron y me permitieron hacer mis ocurrencias en el camino, a mis hermanos Andrés y Felipe en los que siempre encontré un apoyo y de forma especial a mi tía Nelcy quien fue una madre para mi y mis hermanos durante el tiempo que cada uno vivimos en Bogotá.

A Elma a quien amo y quien más cercanamente me acompañó y se aguantó todo el camino que recorrí hasta este punto.

Al Dr. Manuel Rojas, mi director de tesis y amigo, quien me permitió entrar en su laboratorio y abrirme camino en el campo de Fisiología experimental. A todos los profesores, trabajadores y amigos que estuvieron presentes durante mi estadía en la Universidad Nacional de Colombia, especialmente los miembros de los laboratorios de Fisiología Veterinaria y de Neurofisiología Comportamental, de cada uno de ellos debo algo de lo que soy en este momento. A la Universidad Nacional de Colombia por permitirme desarrollar como Medico Veterinario y como Fisiólogo.

Quiero especialmente agradecer a Rodrigo Martínez, apoyo fundamental en el desarrollo de este trabajo y durante todo mi paso por el Laboratorio de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Rodrigo no solo fue importante por su apoyo técnico, sino que fue un verdadero amigo y la persona que hizo del laboratorio un ambiente agradable no solo para quienes estábamos ahí todo el día sino para los muchos que lo solían visitar a diario.

VIII DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE LA CORTEZA AUDITIVA EN LOS  
CAMBIOS INDUCIDOS POR ESTIMULACIÓN AUDITIVA EN EL PATRÓN  
ELECTROENCEFALOGRÁFICO DE SUPRESIÓN CORTICAL (CS)

---

A los doctores Vladimir Galindo y Alejandro Munera por dedicar parte de su tiempo a evaluar este trabajo. También al doctor Herman Moreno, cuyos comentarios al documento final ayudaron a enriquecer el trabajo.

A la Dirección Nacional de Investigación por brindar apoyo económico al desarrollo de este trabajo por medio de la “Convocatoria Nacional de Proyectos para el Fortalecimiento de la Investigación, la Creación y la Innovación de la Universidad Nacional de Colombia 2016-2018” y a la beca Asistente Docente de la Dirección Académica de la cual fui beneficiario.

## Resumen

La supresión cortical (SC) es un patrón electroencefalográfico que puede ser inducido por anestesia general con isoflurano, se caracteriza por periodos de supresión interrumpidos por periodos de alta amplitud y baja frecuencia (ráfagas). La relación entre estos periodos (BSR) puede ser modificada por estimulación externa, las ráfagas pueden ser evocadas con estímulos visuales y auditivos. Existe la hipótesis de que estas ráfagas son generadas en las cortezas primarias de cada modalidad. Por medio de registros electrofisiológicos en la corteza auditiva primaria (CAP) y en la corteza motora (CM) en ratas bajo anestesia general profunda con isoflurano se realizó estimulación auditiva y visual además de la inactivación reversible de la CAP con el ánimo de determinar la participación de la CAP en los cambios inducidos por estimulación auditiva sobre la SC. Se encontró que la estimulación externa produce una disminución del  $7.1 \pm 4.8\%$  en la BSR de la CM y que las ráfagas evocadas por sonido en la CAP ocurren  $92.33 \pm 57.5$  ms antes que en la CM y  $173.22 \pm 71.6$  ms antes que las evocadas por luz en la CAP. La inactivación bilateral de la CAP eliminó reversiblemente la presentación de ráfagas en la CM e impidió la generación de ráfagas evocadas, la inactivación unilateral no modificó significativamente la BSR ni la generación de ráfagas evocadas en la CM o en la CAP contralateral. Estos resultados permiten concluir que la CAP juega un papel importante en la generación y/o propagación de todas las ráfagas durante el patrón electroencefalográfico de SC inducido por isoflurano.

**Palabras clave:** Supresión cortical; Anestesia general; Isoflurano; Corteza auditiva; Corteza motora; Estimulación auditiva; Estimulación visual.

## Abstract

Burst-suppression (SC) is an electroencephalographic pattern that can be induced by isoflurane general anesthesia, it is characterized by periods of suppression interrupted by periods of high amplitude and low frequency (bursts). The ratio between these periods (BSR) can be modified by external stimulation, burst can be evoked by visual and auditory stimuli. There is a hypothesis that these evoked-bursts are generated in the primary cortex of each modality. By electrophysiological recordings on the primary auditory cortex (CAP) and on the motor cortex (CM) in rats under deep isoflurane-general anesthesia, auditory and visual stimulation was performed, along with reversible inactivation of the CAP to determine the role of the CAP on the auditory stimulation-induced changes over the CS. It was found that external stimulation induced a  $7.1\pm 4.8\%$  BSR decrease in the CM and that the auditory-evoked bursts occurs  $92.33\pm 57.5$  ms earlier in the CAP than in the CM and  $173.22\pm 71.6$  ms before of the visual-evoked bursts in the CAP. The bilateral inactivation of the CAP reversibly abolished the presence of bursts in the CM and prevented the generation of evoked burst, the unilateral inactivation does not significantly modify neither the BSR nor the evoked bursts in the CM or in the contralateral CAP. These results allow to conclude that the CAP plays an important role on the generation and/or propagation of all the bursts during the isoflurane-induced electroencephalographic pattern of SC.

**Keywords: Burst Suppression; General Anesthesia; Isoflurane; Auditory Cortex; Motor Cortex; Acoustic Stimulation; Photic Stimulation.**

# Contenido

	Pág.
Contenido	
<b>1. Marco teórico.....</b>	<b>3</b>
1.1 Supresión cortical.....	3
1.2 Fisiología de la supresión cortical.....	4
1.3 Supresión cortical y monitoreo anestésico .....	6
1.4 Supresión cortical y estimulación auditiva .....	6
1.5 El quirófano como ambiente ruidoso .....	7
1.6 Técnicas para el estudio de la participación de la corteza en procesos específicos.....	8
<b>2. Planteamiento del problema y objetivos .....</b>	<b>11</b>
2.1 Planteamiento del problema.....	11
2.2 Pregunta de investigación .....	12
2.3 Objetivos .....	13
2.3.1 Objetivo general.....	13
2.3.2 Objetivos específicos.....	13
<b>3. Materiales y métodos .....</b>	<b>14</b>
3.1 Sujetos experimentales .....	14
3.2 Diseño experimental.....	15
3.3 Procedimiento quirúrgico.....	15
3.4 Inactivación cortical.....	18
3.5 Electrofisiología.....	19
3.6 Electroodos .....	20
3.7 Estimulación.....	21
3.8 Procesamiento de datos.....	22
3.9 Análisis estadístico.....	24
<b>4. Resultados.....</b>	<b>25</b>
4.1 La estimulación auditiva y visual disminuyen la BSR durante SC inducida por isoflurano en ratas. ....	25
4.2 Los estímulos auditivos y visuales producen diferentes ráfagas evocadas en la corteza auditiva primaria y la corteza motora durante SC inducida por isoflurano en ratas. 27	

XII DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE LA CORTEZA AUDITIVA EN  
LOS CAMBIOS INDUCIDOS POR ESTIMULACIÓN AUDITIVA EN EL PATRÓN  
ELECTROENCEFALOGRÁFICO DE SUPRESIÓN CORTICAL (CS)

---

4.3	La inactivación de la corteza auditiva primaria por medio de enfriamiento cortical bilateral incrementa significativamente la BSR en la corteza motora durante SC inducida por isoflurano. ....	29
4.4	Es necesario que la inactivación de la corteza auditiva primaria sea bilateral para incrementar significativamente el BSR en la corteza motora durante SC inducida por isoflurano e impedir la generación de ráfagas en la misma y en la corteza auditiva primaria contralateral. ....	31
<b>5.</b>	<b>Discusión.....</b>	<b>33</b>
<b>6.</b>	<b>Conclusiones y perspectivas.....</b>	<b>37</b>
6.1	Conclusiones .....	37
6.2	Perspectivas .....	37
<b>A.</b>	<b>Anexo: .....</b>	<b>39</b>
	<b>Bibliografía .....</b>	<b>41</b>

## Lista de figuras

	Pág.
<i>Figura 1 Ejemplo de SC inducida con dos anestésicos diferentes.</i> .....	3
<i>Figura 2 Diseño experimental.</i> .....	15
<i>Figura 3 Mapa tonotópico de la CAP con coordenadas estereotáxicas.</i> .....	17
<i>Figura 4 Diagrama ilustrativo del montaje utilizado en el presente experimento.</i> ....	19
<i>Figura 5 Fotografía del montaje utilizado</i> .....	20
<i>Figura 6 Ondas utilizadas para la estimulación externa.</i> .....	22
<i>Figura 7. Imagen representativa del registro obtenido en LabChart.</i> .....	24
<i>Figura 8. Efecto de la estimulación externa sobre la tasa de supresión (BSR).</i> .....	26
<i>Figura 9. Características de las ráfagas evocadas por estimulación externa.</i> .....	28
<i>Figura 10. Efecto de la inactivación reversible bilateral de la corteza auditiva primaria (CAP) sobre la tasa de supresión (BSR) en la corteza motora (CM).</i> .....	30
<i>Figura 11. Inactivación unilateral de la corteza auditiva primaria (CAP).</i> .....	32



# Introducción

El funcionamiento de las vías auditivas durante estados de inconsciencia han sido objeto de estudio. Existe evidencia que muestra que la percepción auditiva se mantiene activa durante estados de inconsciencia como el sueño (Velluti, 1997) por lo cual algunos investigadores se han enfocado en encontrar cómo funciona la percepción auditiva en otros estados de inconsciencia y han utilizado el funcionamiento del sistema auditivo durante estos estados para tratar algunas patologías como el tinnitus (Pedemonte, Testa, Díaz, & Suárez-Bagnasco, 2014). Durante la anestesia general profunda con isoflurano, otro estado de inconsciencia, se presenta el patrón electroencefalográfico de supresión cortical (SC) el cual se puede cuantificar por medio de la tasa de supresión (BSR, por su siglas en inglés). Precisamente, este parámetro ha sido utilizado como parte de la evaluación de la profundidad anestésica en medicina humana y veterinaria (Musizza & Ribaric, 2010). Sin embargo, estudios anteriores han demostrado que la tasa de supresión puede ser modificada por estimulación auditiva (Rojas, Navas, Greene, & Rector, 2008). Aún no se sabe si estas modificaciones se deban a procesamiento del estímulo en la corteza auditiva o si se deba a otros mecanismos subcorticales. En este trabajo se evaluó el efecto de la inactivación bilateral de la corteza auditiva primaria por enfriamiento sobre la generación de los cambios descritos sobre patrón de supresión cortical por estimulación auditiva; además se evaluaron las características de las ráfagas evocadas por estimulación auditiva con dos frecuencias diferentes y las evocadas por estimulación visual con flash, junto con el efecto que estas estimulaciones tienen sobre la BSR.

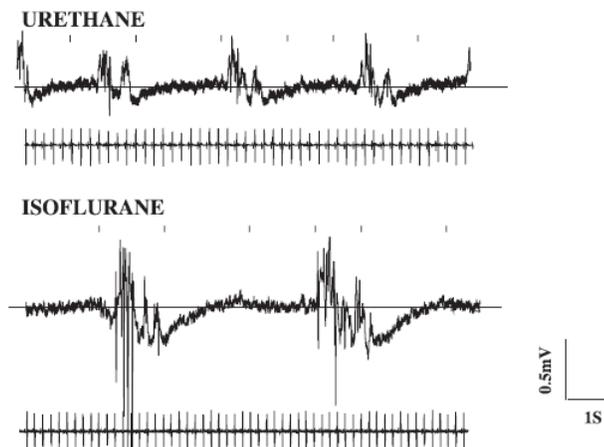
Este es el primer reporte que evalúa el papel de la corteza auditiva primaria en el patrón de supresión cortical (SC). Los resultados encontrados indican que esta juega un papel importante en la generación de todas las ráfagas, no solo evocadas por estimulación auditiva sino también las evocadas por estimulación visual y las que se presentan de forma espontánea. Teniendo en cuenta lo anterior, este trabajo brinda nueva información al conocimiento de la fisiología de la supresión cortical y abre la posibilidad para nuevos

estudios que permitan esclarecer los mecanismos mediante los cuales la corteza auditiva primaria juega este papel en la generación de las ráfagas durante la supresión cortical.

# 1.Marco teórico

## 1.1 Supresión cortical (SC)

La supresión cortical (SC) es un patrón electroencefalográfico caracterizado por ráfagas de alta amplitud seguidos por periodos de actividad casi isoeletrica (*Figura 1*) (Amzica, 2009, 2015; Rojas, Navas, Greene, & Rector, 2008; Urrego, Greene, & Rojas, 2014), tradicionalmente ha sido vinculado a estados fisiológicos como algunos estados de sueño en neonatos y también a estados patológicos como el coma, la hipoxia cerebral o la hipotermia (Amzica, 2009; Brown, Lydic, & Schiff, 2010; Chen, Maybhate, Thakor, & Jia, 2013); sin embargo, es posible inducirlo por medio de algunos fármacos anestésicos, los cuales aumentan la duración de los periodos de supresión (actividad casi isoeletrica) sobre el número y la duración de las ráfagas (periodos de actividad de alta amplitud) de forma dosis dependiente (Amzica, 2009; Kenny, Westover, Ching, Brown, & Solt, 2014; Land, Engler, Kral, & Engel, 2012).



*Figura 1 Ejemplo de SC inducida con dos anestésicos diferentes.*

*Tomado de:(Rojas, Navas, & Rector, 2006)*

## 1.2 Fisiología de la supresión cortical (SC)

A pesar de las diversas hipótesis y teorías alrededor del origen de la SC, las bases fisiológicas de esta son aún desconocidas (Amzica, 2009, 2015; Kenny et al., 2014); en el caso de los anestésicos la diversidad de fármacos y mecanismos de acción ha sido uno de los factores que ha impedido la conciliación entre las diferentes teorías (Kenny et al., 2014). Sin embargo, existen evidencias teóricas que sugieren que puede ser un estado de baja disponibilidad de ATP y se soporta en la similitud de las etiologías que generan la SC (Ching, Purdon, Vijayan, Kopell, & Brown, 2012). Experimentos han mostrado que durante las ráfagas, las células corticales se encuentran en un estado de hiperexcitabilidad, y que por el contrario durante los periodos de supresión se observa una ausencia casi completa de actividad sináptica entre las neuronas corticales acompañada de una hiperpolarización poblacional, sin embargo, se ha encontrado actividad sincronizada rítmica en algunas neuronas del tálamo durante estos periodos que oscila entre 1 y 4 Hz mientras la mayoría de estas están inactivas (Amzica, 2009, 2015; Amzica & Kroeger, 2011; Steriade, Amzica, & Contreras, 1994).

Existen diversas teorías que apuntan a explicar algunas de las características más conservadas de la SC, por ejemplo, existe un modelo en el cual el factor más importante es la disponibilidad de ATP y la apertura de canales de potasio dependientes de su concentración, así, cuando existen concentraciones bajas de ATP, estos canales se abren permitiendo altas conductancias de potasio y llevando a las neuronas piramidales a hiperpolarización y por tanto evitando la generación de potenciales de acción lo que explicaría la supresión. Al evitar la producción de potenciales de acción, las concentraciones basales de ATP pueden recuperarse lo que cierra los canales de potasio dependientes de estas y abre la ventana a la generación de potenciales de acción que explicaría la presencia de las ráfagas en las cuales, dado que la tasa metabólica cerebral de oxígeno están reducidas, lleva a una nueva disminución del ATP. Este modelo explicaría la periodicidad de la SC y se correlaciona con una característica común de las diferentes etiologías de la SC (coma, hipoxia, isoflurano, etc.) como lo es la baja tasa metabólica (Brown et al., 2010; Ching et al., 2012).

Otra de las características más prevalentes de la SC, sobre todo la SC inducida por anestésicos, es la hiperreactividad cortical (Kroeger & Amzica, 2007). A este respecto se sabe que esta hiperreactividad depende de una compleja interacción entre actividad sináptica (desaparición completa de los potenciales inhibitorios postsinápticos y parcial de los potenciales excitatorios postsinápticos), actividad glial (incremento en la recaptación de glutamato) y las dinámicas del calcio (incremento en las concentraciones basales) en el espacio extracelular de la corteza (Ferron, Kroeger, Chever, & Amzica, 2009; Kroeger & Amzica, 2007). Por otro lado, también se ha encontrado que durante la SC se encuentra totalmente bloqueada la inhibición cortical mientras las entradas excitatorias talámicas son disminuidas solo parcialmente (44%) (Ferron et al., 2009) lo cual facilita la influencia de la actividad talámica sobre la corteza.

Esa hiperreactividad cortical se hace evidente dada la existencia de ráfagas evocadas por estímulos externos, las cuales han sido bien caracterizadas en gatos (Kroeger & Amzica, 2007) y los datos indican que sus características temporales y espectrales no difieren de las de las ráfagas espontáneas; estas características incluyen duración de 2 s, frecuencia dominante de 1.6 Hz y a nivel celular tienen un componente excitatorio inicial seguido por un periodo de repolarización que precede una serie de eventos despolarizantes que coinciden con la ráfaga a nivel poblacional. También se sabe que existe un periodo refractario absoluto (Aproximadamente 2 s) y uno relativo (entre los 2 y los 3.5 s), este último depende de la duración de la ráfaga que lo precede y se caracteriza por que las ráfagas evocadas consisten en eventos individuales de alta amplitud (Kroeger & Amzica, 2007).

Tal vez la característica en la que existe menor consenso es la aparente sincronía de la aparición de las ráfagas a lo largo de la corteza cerebral, por un lado, se ha propuesto que las ráfagas se sincronizan por medio de conducción intracortical posiblemente a través del sincitio de uniones comunicantes entre células gliales (Kroeger & Amzica, 2007) y las diferencias en latencia de las ráfagas evocadas por estímulos externos lo soporta parcialmente (Land et al., 2012). Por otro lado, también se ha propuesto que esta sincronía sea mediada por el tálamo y el hecho de que la inhibición intracortical sea afectada más pronunciadamente que las entradas excitatorias talámicas respalda esta hipótesis (Raz et al., 2014).

A pesar de la existencia de evidencias experimentales y de la presencia de modelos que parecen ajustarse a la realidad, las bases biofísicas y neurofisiológicas del patrón de supresión cortical siguen siendo desconocidas (Amzica, 2009, 2015; Liley & Walsh, 2013; Urrego et al., 2014).

### **1.3 Supresión cortical y monitoreo anestésico**

Dado que algunos de los anestésicos más utilizados en las salas de cirugía (e.g. propofol, isoflurano) inducen la presentación del patrón de supresión cortical, este ha sido utilizado como uno de los parámetros que para evaluar la profundidad anestésica (Franks, 2008), junto con la presión arterial, las frecuencias cardíaca y respiratoria, la posición del globo ocular (en algunas especies) y la presencia de algunos reflejos entre otros. Para lo anterior, se han desarrollado índices como la tasa de supresión (BSR por sus siglas en inglés), el cual relaciona el trazado electrofisiológico que permanece en estado de supresión sobre el tiempo total y lo multiplica por cien, arrojando valores entre cero y cien (Bruhn, Bouillon, & Shafer, 2000). Otro de estos índices es el índice bispectral (Kissin, 2000), el cual además de usar la BSR, analiza también las características espectrales del trazado electroencefalográfico y electromiográfico, este también arroja valores entre cero y cien (Kreuer et al., 2004), pero la forma en que se calcula hace parte de una patente y por lo tanto no es de público acceso, solo existe evidencia de que en valores muy altos de tasa de supresión (>40), el índice bispectral se comporta de forma lineal con la tasa de supresión (Bruhn et al., 2000). Su uso ha sido también ampliado a la generación de sistemas automáticos para el control de la profundidad anestésica, los cuales son particularmente útiles en el coma inducido por anestésicos (Lieberman, Ching, Chemali, & Brown, 2013).

### **1.4 Supresión cortical y estimulación auditiva**

La supresión cortical ha sido estudiada como mecanismo de determinación de la profundidad anestésica (Franks, 2008), por lo cual algunos autores han intentado

esclarecer como cambia el EEG con estímulos externos cuando este se encuentra en un estado de supresión cortical (K. Hartikainen & Rorarius, 1999; Land et al., 2012; Rojas et al., 2008). Los estímulos auditivos son difíciles de evadir en las salas de cirugía (Hasfeldt, Laerkner, & Birkelund, 2010), razón por la cual muchos de estos autores han enfocado sus experimentos al procesamiento de estímulos auditivos durante anestesia y por supuesto durante la supresión cortical (K. Hartikainen & Rorarius, 1999; Land et al., 2012; Rojas et al., 2008).

En ratas se han descrito cambios en la tasa de supresión durante estimulación auditiva, la cual disminuye cuando el estímulo es familiar (i.e. una voz conocida) o representa algún peligro para el animal, como un sonido estruendoso (i.e. un aplauso) (Rojas et al., 2008); por otro lado se ha descrito también que ráfagas individuales pueden ser evocadas por estímulos auditivos (K. Hartikainen & Rorarius, 1999; Land et al., 2012; Rojas et al., 2006), visuales (K. Hartikainen et al., 1995; Land et al., 2012) y somatosensoriales (Kroeger & Amzica, 2007). Se ha reportado que ráfagas evocadas por estímulos visuales y auditivos ocurren en la corteza visual (Land et al., 2012) y en otras cortezas (Kroeger & Amzica, 2007). En la corteza visual las ráfagas evocadas por estímulos visuales tienen una latencia menor a las evocadas por estímulos auditivos, lo cual sugiere que las ráfagas se inician en las cortezas primarias de cada modalidad y luego se propagan al resto de la corteza (Land et al., 2012).

## 1.5 El quirófano como ambiente ruidoso

Durante los procedimientos quirúrgicos bajo anestesia general, los pacientes son expuestos a una gran cantidad de estímulos auditivos de diferente origen (Hasfeldt et al., 2010; Liu & Tan, 2000). La realización de los procedimientos requiere del uso de aparatos electrónicos los cuales producen sonidos ya sea por su funcionamiento o porque parte de su función es alertar al equipo que realiza el procedimiento de eventualidades anómalas o de eventos normales (frecuencia cardiaca, alarmas); por otro lado, la comunicación del equipo que realiza el procedimiento es mayormente verbal por lo que esto constituye otro origen de sonidos en el quirófano, están también los sonidos de origen externo al quirófano y por supuesto los sonidos asociados a conversaciones personales entre el equipo y las preferencias de algunos cirujanos, como realizar el procedimiento escuchando música (Hasfeldt et al., 2010).

Dado que el quirófano es un ambiente con ruidos de diferente origen, es posible entender como la experiencia de los pacientes es tan variable con protocolos idénticos (Liu & Tan, 2000). Es posible también, que se deba a errores en la evaluación de la profundidad anestésica que puede depender en parte de la tasa de supresión, la cual, puede ser modificada por la estimulación auditiva. (Rojas et al., 2008)

## **1.6 Técnicas para el estudio de la participación de la corteza en procesos específicos**

Para estudiar la participación de diferentes regiones de la corteza cerebral, se han desarrollado técnicas para evitar su función y relacionar esta ausencia con cambios funcionales en algún fenómeno (Lomber, 1999). Existen métodos físicos y farmacológicos para lograr esto, dentro de los farmacológicos se encuentran las inyecciones intracorticales de agonistas de receptores GABA<sub>A</sub> como el musimol, antagonistas glutamatérgicos como APV y NBQX y bloqueadores de canales de sodio como la lidocaína, todos estos buscando impedir la excitabilidad de las neuronas piramidales evitando así la generación de potenciales de acción y la comunicación de éstas corriente abajo (i.e. con otras estructuras o núcleos) (Ebbesen, Doron, Lenschow, & Brecht, 2017; Lomber, 1999). Por otro lado, se han desarrollado métodos físicos como la crio-inhibición en la cual por medio de un sistema de enfriamiento localizado se puede inactivar una zona específica de la corteza cerebral; debido a que el mantenimiento de la actividad eléctrica neuronal (i.e. presencia de potenciales de acción) requiere, por ejemplo, de la hidrólisis de ATP para la recuperación de los gradientes iónicos; bajas temperaturas disminuyen la posibilidad de que estas reacciones se den y por tanto afectan la actividad eléctrica neuronal de la zona (Lomber, Payne, & Horel, 1999). También se han desarrollado técnicas para lesionar o retirar zonas de la corteza, la lesión de la corteza se puede lograr de tres formas, la primera es con la administración de una gran cantidad de corriente eléctrica lo cual lleva a electrolisis de los tejidos impidiendo la sobrevivencia de las neuronas y otras células; la segunda es por medio de excitotoxicidad realizada por medio de agonistas glutamatérgicos los cuales también producen la muerte de las neuronas y la tercera es retirar mecánicamente el tejido

---

cortical, ya sea por medio de succión o de raspado (Lamas, Estévez, Pernía, Plaza, & Merchán, 2017; Melo, Brandão, Graeff, & Sandner, 1997).

Con el desarrollo de las manipulaciones moleculares, han aparecido nuevos métodos para lograr de forma selectiva y efectiva la inactivación de grupos neuronales, por ejemplo, los Receptores diseñados para ser activados por drogas específicas (DREADDs por sus siglas en inglés Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) y las manipulaciones optogenéticas (Smith, Bucci, Luikart, & Mahler, 2016; Weible, Liu, Niell, & Wehr, 2014) son dos técnicas en las cuales por medio de la administración de un fármaco o la exposición del tejido a un haz de luz a una cierta longitud de onda respectivamente permiten activar ya sean cascadas enzimáticas o bombas iónicas que disminuyan la excitabilidad de las neuronas diana, o que la aumenten.



## **2.Planteamiento del problema y objetivos**

### **2.1 Planteamiento del problema**

El patrón electroencefalográfico de supresión cortical es caracterizado por ráfagas de actividad de alta amplitud seguidos por periodos de supresión con actividad casi isoeletrica(Urrego et al., 2014). Este ha sido asociado con estados patológicos, como el coma, y fisiológicos como el sueño en neonatos, pero también se presenta en sujetos bajo anestesia general profunda con algunos fármacos (Amzica, 2009, 2015), por lo cual sus características han sido tenidas en cuenta como herramienta en la valoración de la profundidad anestésica (Kreuer et al., 2004).

El isoflurano es un anestésico inhalado de amplio uso en cirugía tanto en medicina humana como en medicina veterinaria e investigación; sujetos bajo anestesia general profunda con isoflurano presentan el patrón de supresión cortical (Urrego et al., 2014). La tasa de supresión es una medida estándar para caracterizar el patrón de supresión cortical (Chemali, Wong, Solt, & Brown, 2011) y ha sido utilizada como uno de los criterios de valoración de la profundidad anestésica (Kreuer et al., 2004). Estudios han demostrado que la estimulación auditiva puede cambiar drásticamente la tasa de supresión (K. Hartikainen & Rorarius, 1999; Rojas et al., 2008) y dado que dentro del quirófano los pacientes pueden estar expuestos a sonidos provenientes de diferentes fuentes (Hasfeldt, Laerkner, & Birkelund, 2010), estos sonidos pueden inducir errores en la valoración y el manejo de la profundidad anestésica (Rojas et al., 2008).

Pese a la disponibilidad de información relacionada con la generación de la supresión cortical y el impacto que la estimulación auditiva tiene sobre esta (K. Hartikainen et al., 1995; K. Hartikainen & Rorarius, 1999; K. M. Hartikainen, Rorarius, Peräkylä, Laippala, & Jäntti, 1995; Land et al., 2012; Rojas et al., 2008), además de las diferentes caracterizaciones que se han realizado del patrón en como fenómeno global (Chemali et

al., 2011; Ching et al., 2012; Kenny et al., 2014), son muy pocos los estudios realizados en el estudio de la participación de diferentes regiones cerebrales en la generación de estos cambios (Hudetz & Imas, 2007; Land et al., 2012). Es comúnmente reportado que existe una aparente sincronía de las ráfagas a lo largo de la corteza cerebral y el reporte de Land et al., (2012) explora las características de ráfagas inducidas por estimulación auditiva y visual en la corteza visual y en el *subiculum*; este estudio a pesar de demostrar que las latencias de diferentes modalidades de estimulación son diferentes, no tiene información acerca de su origen. No existen estudios previos sobre la participación de un área cortical específica en la dinámica de las ráfagas inducidas por estimulación externa, no existen tampoco reportes que corroboren estos datos por lo que entender la dinámica de estas ráfagas podría ser una forma de aproximarse al entendimiento general de la SC y podría en el futuro brindar información acerca del procesamiento de información externa en individuos bajo anestesia general profunda, lo cual a su vez podría llegar a ser importante en situaciones clínicas como la anestesia en el quirófano, la anestesia en pacientes con coma inducido e incluso en las normativas relacionadas con su uso en experimentación animal.

## 2.2 Pregunta de investigación

¿Requieren los cambios inducidos por estimulación auditiva sobre el patrón electroencefalográfico de supresión cortical en animales anestesiados con isoflurano la participación de la corteza auditiva primaria?

## **2.3 Objetivos**

### **2.3.1 Objetivo general**

Determinar la participación de la corteza auditiva en los cambios inducidos por estimulación auditiva sobre el patrón electroencefalográfico de supresión cortical en ratas bajo anestesia general con isoflurano.

### **2.3.2 Objetivos específicos**

- Estandarizar el registro de la supresión cortical en corteza auditiva y motora en ratas bajo anestesia profunda con isoflurano.
- Determinar si las ráfagas inducidas por estimulación auditiva ocurren antes en la corteza auditiva, que en la corteza motora en ratas bajo anestesia profunda con isoflurano.
- Determinar si la inactivación por enfriamiento de la corteza auditiva impide la inducción de los cambios inducidos por estimulación auditiva sobre la supresión cortical en ratas bajo anestesia profunda con isoflurano.
- Determinar si la inactivación por enfriamiento de la corteza auditiva modifica la latencia de las ráfagas inducidas por estimulación auditiva en la corteza motora en ratas bajo anestesia profunda con isoflurano.

## **3. Materiales y métodos**

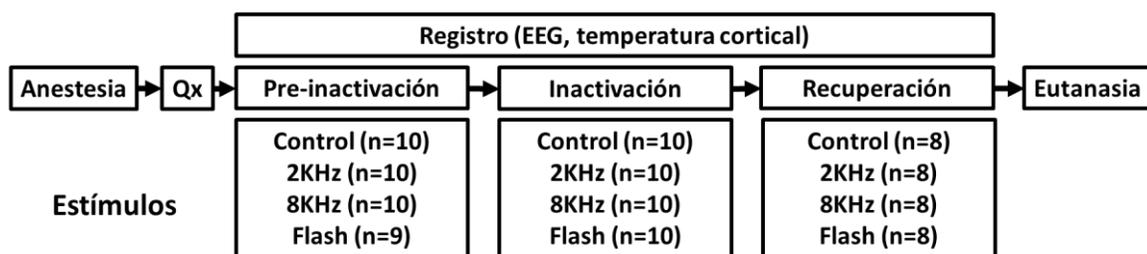
### **3.1 Sujetos experimentales**

Todos los procedimientos realizados a los animales, al igual que las condiciones de alojamiento y la disposición de los residuos biológicos y químicos, durante este estudio fueron aprobados por el comité de bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia (oficio CB-FMVZ-UN-043-17 ver Anexo A), y fueron realizados observando las normativas nacionales e internacionales pertinentes: el Título V de la resolución N° 008430 de 1993 del Ministerio de Salud y Ley 84 del 27 de diciembre de 1989; al igual que los procedimientos para el manejo y cuidado de animales de laboratorio recomendados por la normativa de la Unión Europea (8616091EU) y los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América (National Research Council, 1996).

Se utilizaron diez ratas Wistar macho adultas con 250g a 350g de peso, obtenidas en el Bioterio Central de la Universidad Nacional de Colombia en la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia donde son mantenidas con ciclo de luz/ oscuridad de 12 horas cuyas luces se encienden a las 6 pm. Los animales fueron obtenidos el mismo día del experimento y la eutanasia fue administrada al finalizar el experimento administrando cloruro de potasio (KCl) a una dosis de 2 mM/Kg vía intracardiaca bajo anestesia profunda. Todos los experimentos fueron realizados en el Laboratorio de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia.

### 3.2 Diseño experimental

Se realizó un estudio de tipo experimental, en el cual se estudió el efecto de diferentes estímulos (auditivo y visual) sobre la BSR durante tres situaciones experimentales diferentes: pre-inactivación, inactivación y recuperación (recuperación de la temperatura cortical), también se estudiaron las características (SR, latencia y amplitud máxima) de las ráfagas evocadas por los estímulos (*Figura 2*). Adicionalmente se realizó inactivación unilateral en tres de los animales en los cuales se estudió la BSR y las características de las ráfagas evocadas por la estimulación auditiva con 2KHz.



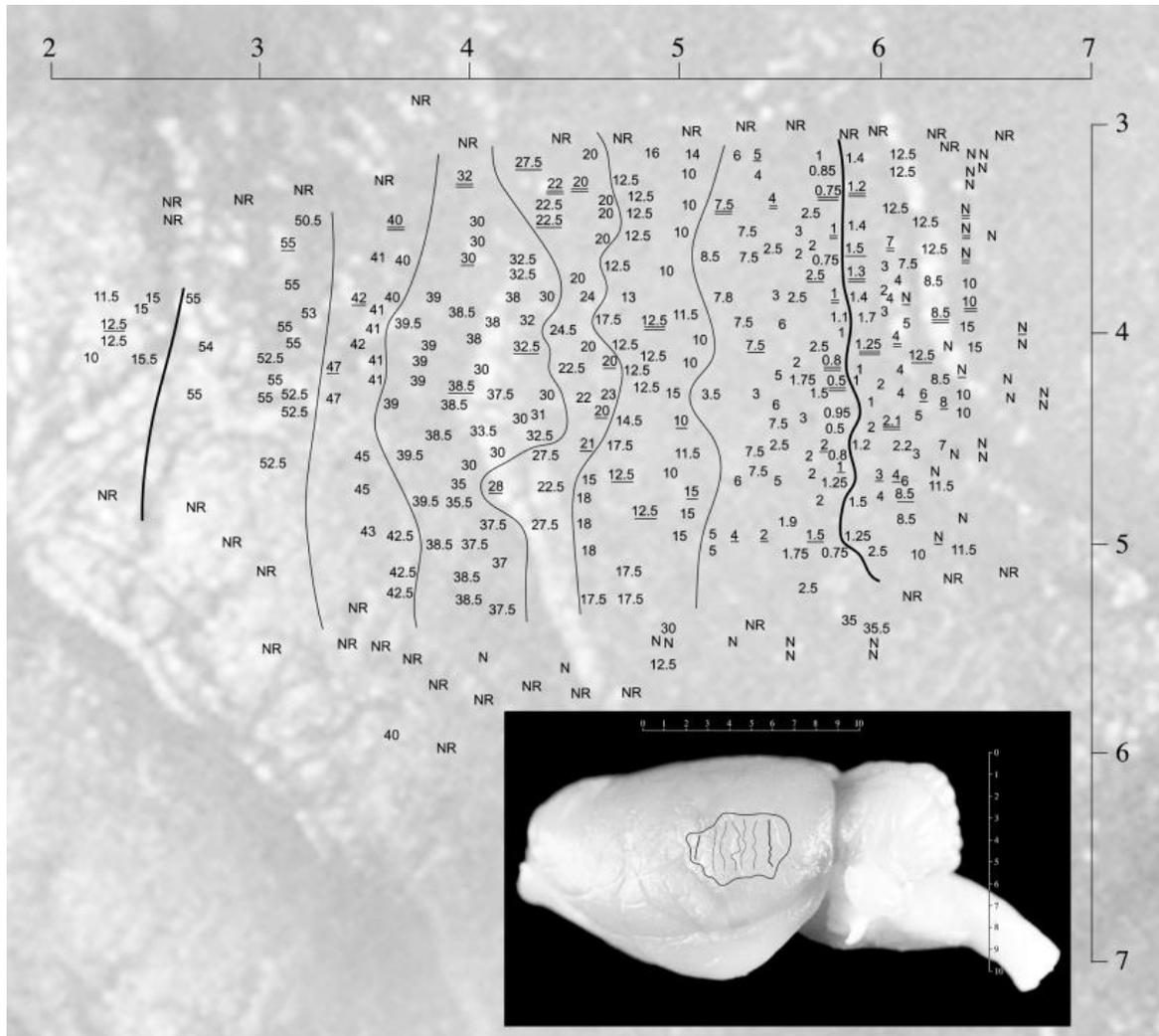
*Figura 2 Diseño experimental.*

10 animales fueron sometidos a anestesia general profunda con isoflurano y se les realizó cirugía estereotáxica para registrar EEG en la CAP y la CM, también para posicionar los cryoloops que permitirán la inactivación de la CAP. Luego siguieron un protocolo de estimulación con sonidos (2KHz y 8KHz) y con luz (Flash) durante tres diferentes momentos; antes de la inactivación de CAP (Pre-inactivación), durante la inactivación bilateral de CAP (Inactivación) y después de la inactivación de CAP (Recuperación). Un registro de Pre-inactivación fue perdido debido a problemas informáticos y dos animales murieron durante el proceso de recuperación. Entre paréntesis se indica el número de animales incluidos en el análisis del presente trabajo.

### 3.3 Procedimiento quirúrgico

Los animales fueron inducidos a plano anestésico quirúrgico con isoflurano (MINRAD inc) al 5% por medio de restricción física y el uso de una máscara, luego se posicionó el animal en el marco estereotáxico (Narishige SR-6R) y utilizando una máscara plástica (impresa en el Departamento de Ingeniería Mecánica de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá) adaptada a la pieza de boca de este. Se realizó el mantenimiento anestésico con isoflurano (1.8 - 2%), el cual fue controlado por medio de la ausencia del reflejo de retirada evocado con presión en membrana interdigital de miembro posterior con pinza, la concentración del anestésico fue medida con un monitor de gases (Ohmeda 5250 RGM) el cual a su vez también informaba la frecuencia respiratoria por medio del capnograma.

Posicionado el animal y estabilizado con las barras de oído, se procedió a realizar la preparación del área quirúrgica afeitando y desinfectando con alcohol y yodopovidona para iniciar el procedimiento quirúrgico. 0.5 ml de Lidocaína 2% con epinefrina 1:8000 (Ropsohn) fue administrada de forma subcutánea a lo largo de la línea media del cráneo y se dejó actuar por 2 minutos, posteriormente se realizó una incisión longitudinal a lo largo de la línea media del cráneo exponiendo los puntos de sutura bregma y lambda, con ayuda de una aguja y un micromanipulador se niveló la cabeza del animal y se tomaron las medidas para la ubicación de los electrodos (tornillos de acero inoxidable de 1 mm de diámetro y 3 mm de longitud) en el lóbulo frontal ubicados sobre la corteza motora (AP: 2 mm, LL: 2 mm (Paxinos & Watson, 1997) bilateralmente, utilizando un mototool de velocidad variable (Dremel 4000) y una broca (1 mm de diámetro), se trepanaron los agujeros y se atornillaron los electrodos en ambos lados. Seguido a esto, se procedió a realizar la trepanación del cráneo sobre la ubicación de la corteza auditiva primaria (AP: -5 mm, DV: 4 mm, LL: superficie lateral *Figura 3* (Doron, Ledoux, & Semple, 2002)), para lo cual se realizó una incisión perpendicular a la incisión inicial 5mm posterior a bregma prolongada bilateralmente hasta exponer los músculos temporales. Con los músculos temporales expuestos, estos fueron cuidadosamente separados del cráneo y desinsertados del hueso temporal dejándolo adherido únicamente a su punto de inserción en la apófisis coronoides. Con ayuda del mototool y a baja velocidad se trepanó un área circular de 5 mm de diámetro con centro en (AP: -5 mm, DV: 4 mm, LL: superficie lateral (Doron et al., 2002) *Figura 3*) la cual se prolongó hacia dorsal, los fragmentos de hueso fueron dejados sobre la dura madre hasta el momento del posicionamiento de los cryoloops.



**Figura 3 Mapa tonotópico de la CAP con coordenadas estereotáxicas.**  
Tomado de (Doron et al., 2002)

Buscando evitar ocluir el canal auditivo externo con las barras de oído, se adhirió, utilizando acrílico dental (Veracril®), un cilindro de cobre de 5 mm de diámetro y 2 cm de largo sobre el hueso occipital al cual fueron aseguradas las barras de oído para estabilizar el animal. Posteriormente se retiraron los fragmentos de hueso y se posicionaron los cryoloops (3 mm de diámetro) sobre las coordenadas estereotáxicas de la corteza auditiva primaria dentro de la trepanación.

Todas las hemorragias menores se controlaron con el uso de un cauterizador quirúrgico (McKESSON®), se administró un bolo subcutáneo de 10 ml de solución salina fisiológica y la corteza se mantuvo hidratada con solución salina fisiológica. Un ungüento oftálmico

fue administrado de forma tópica para mantener la córnea hidratada, la temperatura corporal fue mantenida por medio de una manta térmica construida en el laboratorio utilizando un termostato (Panlab®) y de mediciones periódicas de la temperatura rectal, todos los registros fueron obtenidos cuando los animales se encontraban dentro del rango de 36.5 – 37.5 °C.

### **3.4 Inactivación cortical**

La inactivación cortical se llevó a cabo utilizando un sistema similar y siguiendo la técnica de enfriamiento cortical descrita por Lomber et al., (1999); los cryoloops consistieron en un aro hecho con una aguja 23G adherida a dos pericraneales a los cuales se les removió la aguja, las mangueras de los pericraneales fueron asegurados a cada terminal de la aguja de tal manera que permitiera el flujo de líquido sin fugas. El enfriamiento fue logrado por medio de circulación de metanol a través de un tubo de cobre de 5 mm de diámetro y 70 cm de largo en forma de espiral contenido en una caja de icopor con hielo seco, el metanol fue impulsado por una bomba peristáltica miniplus 3 (Gilson®) por dos canales independientes, uno para cada cryoloop. Para controlar el ruido producido por el sistema de enfriamiento dentro de la estimulación auditiva, el circuito de flujo del metanol contaba con un sistema de válvulas hecho con llaves de tres vías con el cual se mantenía en movimiento el circuito sin que el metanol pasara por los cryoloops, esto se utilizó en los registros pre-inactivación y recuperación, así como para realizar la inactivación unilateral.

Los cryoloops se ubicaron sobre la corteza auditiva primaria (*Figura 4*) y la temperatura superficial de la corteza fue controlada modificando la velocidad de la bomba peristáltica y medida por medio de un termopar que se encontraba adherido al electrodo de registro ubicado sobre la corteza auditiva primaria el cual estaba conectado a un termómetro digital (Omega® HH-25TC). Se iniciaron los registros del periodo de enfriamiento cuando se observaba una reducción mayor al 90% de la actividad en el registro correspondiente al electrodo ubicado en la corteza auditiva primaria. La concentración de isoflurano no fue modificada durante el tiempo de los registros.

Para controlar el efecto local de la inactivación cortical, en tres de los animales se realizó inactivación cortical unilateral en cada uno de los lados cerrando el paso del metanol por

el cryoloop del lado que no se inactivó, en ambos casos se registró la temperatura y el EEG en la corteza auditiva primaria derecha.

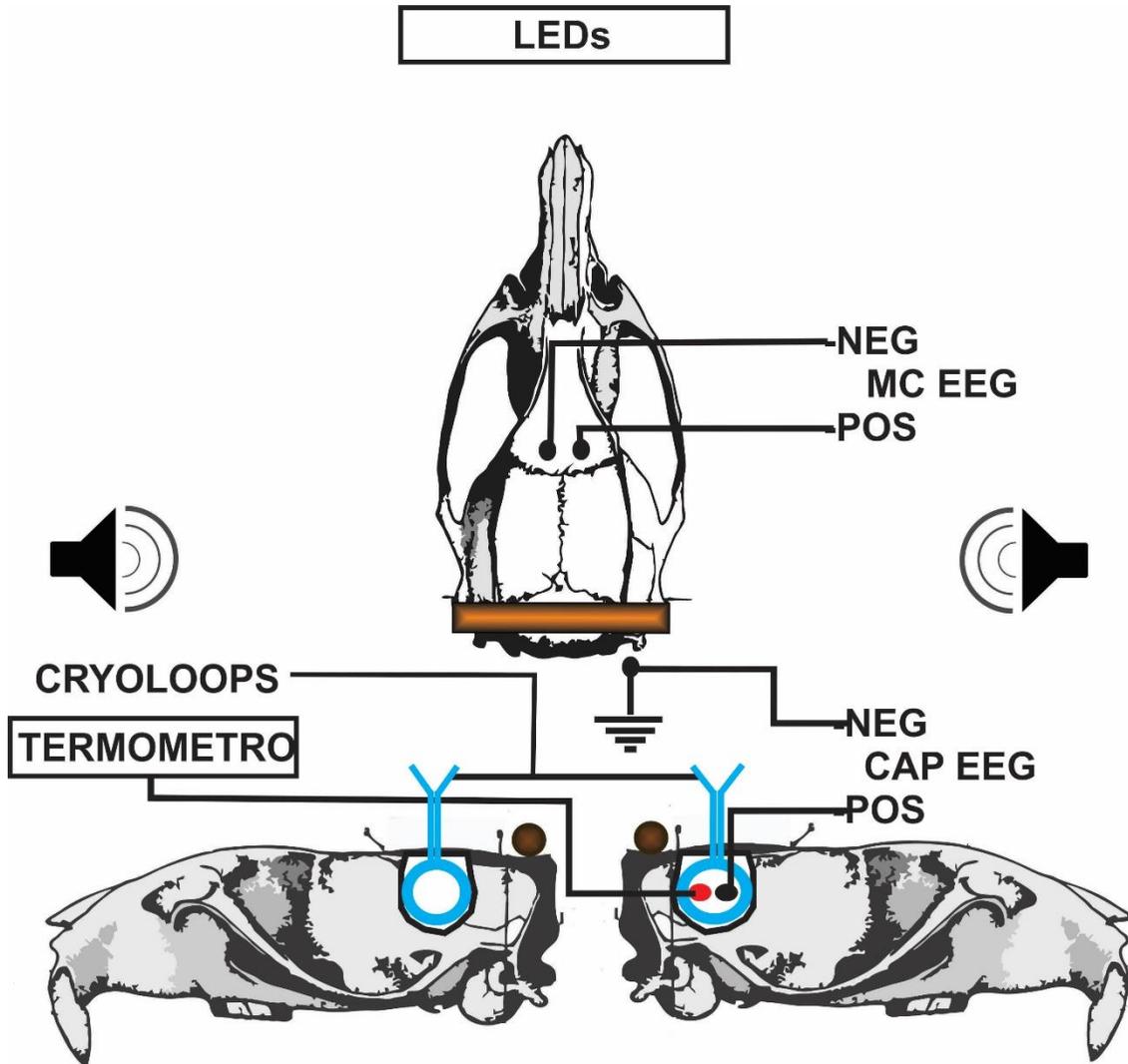
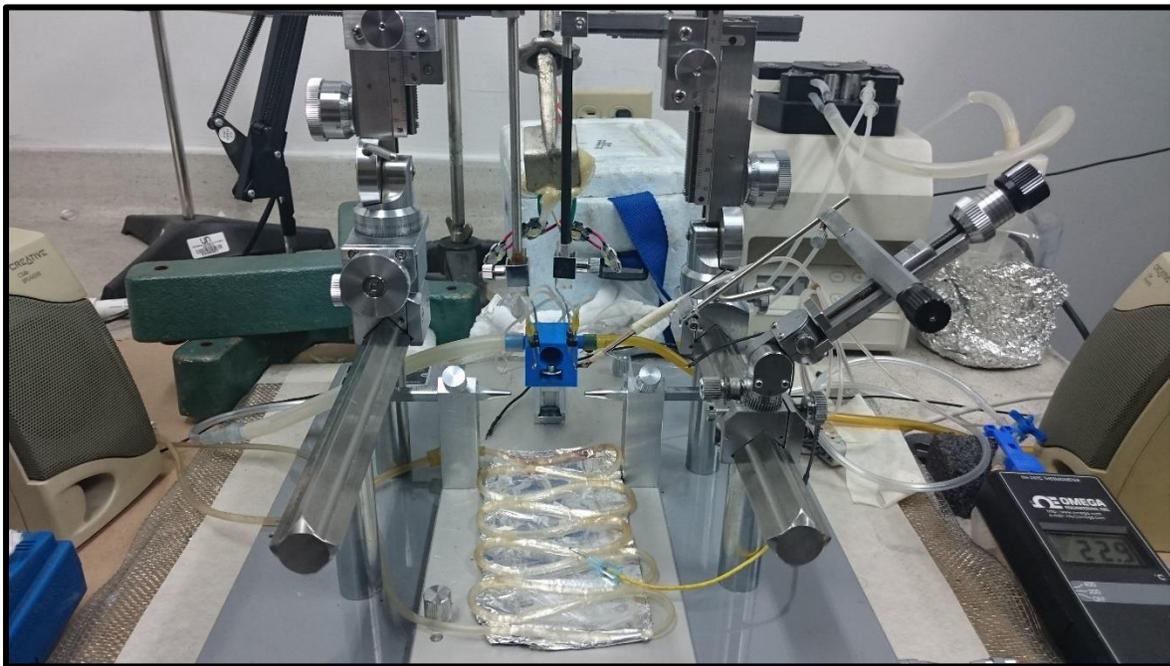


Figura 4 Diagrama ilustrativo del montaje utilizado en el presente experimento.

### 3.5 Electrofisiología

Se registró EEG monopolar en la CAP derecha y EEG bipolar en la CM. En la CAP se realizó un registro electrofisiológico monopolar de la superficie de la corteza ubicando el electrodo en medio del cryoloop del lado derecho (Figura 4). En la CM se realizó un registro bipolar ubicando los electrodos 2 mm rostral a bregma y 2 mm lateral a la línea media de

forma bilateral (Paxinos & Watson, 1997), la entrada positiva fue ubicada al lado derecho. La adquisición de las señales fue realizada con un equipo PowerLab 26T (ADInstruments) y fueron visualizadas utilizando el software LabChart 8 (ADInstruments) (*Figura 7*) la tasa de adquisición de las señales fue 10 KHz. Además de los canales de electrofisiología, también se registró en un canal la presentación de los estímulos y en otro canal la concentración de isoflurano obtenida directamente del monitor de gases, y se registraron como comentarios el tipo de estímulo y la temperatura de la superficie cortical. Todas las señales fueron almacenadas para ser analizadas *off-line*.



*Figura 5* Fotografía del montaje utilizado

### 3.6 Electrodo

Los electrodos de registro en la corteza frontal consistieron en dos tornillos de acero inoxidable de 1 mm de diámetro y 3 mm de largo conectados a las entradas del preamplificador como ha sido descrito en trabajos anteriores (Rojas et al., 2008; Rojas et al., 2006), la entrada positiva fue conectada al electrodo del lado derecho. El electrodo ubicado en la superficie de la corteza auditiva primaria consistió en un tornillo de acero inoxidable de punta roma, acoplado a un termopar tipo T, el electrodo fue conectado a la

entrada positiva y la entrada negativa estaba conectado al electrodo de tierra. El electrodo de tierra consistió en una aguja hipodérmica 23G curva insertada en la musculatura del cuello y conectada a la entrada de tierra del preamplificador (*Figura 4*).

### 3.7 Estimulación

Se aplicó estimulación auditiva y visual. La estimulación auditiva fue realizada por medio del módulo de estimulación del PowerLab 26T a través de dos parlantes (Genius) localizados a 50 cm de distancia a ambos lados del animal. Los estímulos consistieron en ondas senoidales de 20 ms de duración incluyendo una rampa de subida de 5 ms y otra de bajada de 5 ms a la frecuencia deseada (2KHz o 8KHz) (*Figura 66*) para evitar la estimulación a otras frecuencias producida por el incremento abrupto de la amplitud del estímulo (Anderson & Malmierca, 2013) y fueron generados en el software LabChart 8 utilizando el generador aritmético de estímulos por medio de las siguientes funciones:

Rampa de subida (5 ms):

$$V = 1000 * t * (\sin(2 * \pi * t * Fr))$$

Meseta (10 ms):

$$V = 5 * \sin(2 * \pi * t * Fr)$$

Rampa de bajada: (5 ms):

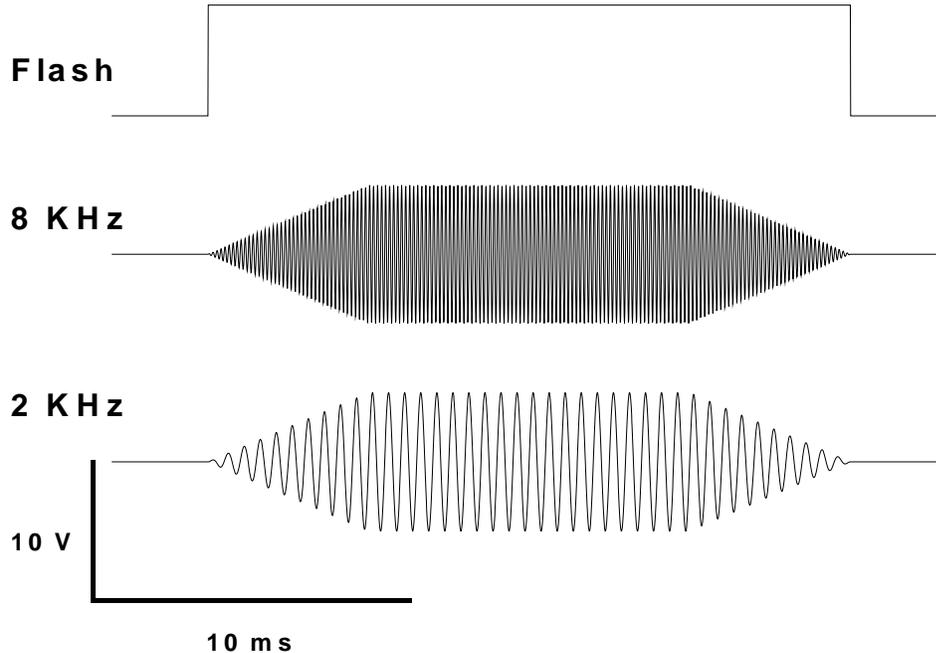
$$V = 1000 * (t - 0.005) * (\sin((2 * \pi * (t - 0.005) * Fr)) + \pi)$$

Donde  $V$  es el voltaje del estímulo en voltios,  $t$  es el tiempo en segundos y  $Fr$  es la frecuencia del estímulo en Hertz.

La estimulación visual se realizó con un Flash generado por medio de una onda cuadrada de 8 V con una duración de 20 ms (*Figura 66*), aplicada a un arreglo de 4 LEDs de potencia de 3W los cuales fueron conectados en paralelo y posicionados frente a los ojos del animal a una distancia aproximada de 10 cm.

El protocolo de estimulación antes del enfriamiento cortical fue: un registro control al inicio del experimento, un registro con estimulación auditiva de 2KHz, un registro con estimulación auditiva de 8KHz, un registro con estimulación visual y un registro control al final. Durante el enfriamiento cortical se realizó un registro control, un registro con

estimulación auditiva de 2KHz, un registro con estimulación auditiva de 8KHz y un registro con estimulación visual. Finalmente, después de la recuperación de la temperatura en la corteza se realizó un registro control, un registro con estimulación auditiva de 2KHz, un registro con estimulación auditiva de 8KHz y un registro con estimulación visual. Los periodos de estimulación consistieron en 120 estímulos con un intervalo entre estímulos aleatorio de 2 – 3 segundos. En los registros control, se desconectaron tanto los parlantes como el arreglo de LEDs y se registró por un tiempo similar al de los experimentos con estimulación (120 marcadores de eventos, IEE: aleatorio 2-3 s). El orden de los periodos de estimulación visual, con auditiva de 2KHz y auditiva de 8KHz fue aleatorio.



*Figura 6 Ondas utilizadas para la estimulación externa.*

### 3.8 Procesamiento de datos

Para la obtención del BSR, las señales de EEG de la CM fueron filtradas con la función band pass filter de LabChart dejando la banda de frecuencia de 4-50 Hz, luego se generó un canal con la función de aritmética "abs" en el cual se graficó la señal del EEG de la CM en valores absolutos, finalmente se generó otro canal con la función de medidas cíclicas

en LabChart 8, en la cual se fijó un umbral dependiendo de cada registro 10-15  $\mu\text{V}$  y se midió la frecuencia de eventos. Estos datos fueron luego submuestreados 200 veces y en Excel se seleccionaron los valores iguales o inferiores a 4Hz como periodos de supresión y se halló la relación entre estos y el total de los datos que finalmente fue expresada en términos porcentuales (BSR).

Para el análisis de las ráfagas evocadas por los estímulos, la señal de los dos canales se filtró utilizando la función band pass filter de nuevo dejando la banda de frecuencia de 1-100 Hz, luego se generaron dos canales con las señales absolutas de estos (señal rectificada) y se procedió a observar las ráfagas evocadas por los estímulos utilizando la función Scope view de LabChart 8, allí se seleccionaron las ráfagas en el canal de la corteza motora que cumplieran los siguientes criterios: 300 ms de supresión antes de la presentación del estímulo, latencia inferior a 300 ms después de la presentación del estímulo.

Se promediaron las ráfagas obtenidas y se guardó la señal promedio tanto de los valores originales como la señal rectificada de ambos canales, a esta señal se le sustrajo el promedio de la señal durante 500 ms antes del estímulo obteniéndose una gráfica por cada animal para cada uno de los estímulos. A esta señal promedio se le midió la latencia entre la presentación del estímulo y el momento en que la ráfaga alcanzó al 50% de la amplitud máxima y se midió la amplitud máxima. También se registró la relación entre el número de estímulos y el número de ráfagas seleccionadas y esta relación se presentó en términos porcentuales como la tasa de éxito (SR).

## 24 DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE LA CORTEZA AUDITIVA EN LOS CAMBIOS INDUCIDOS POR ESTIMULACIÓN AUDITIVA EN EL PATRÓN ELECTROENCEFALOGRÁFICO DE SUPRESIÓN CORTICAL (CS)

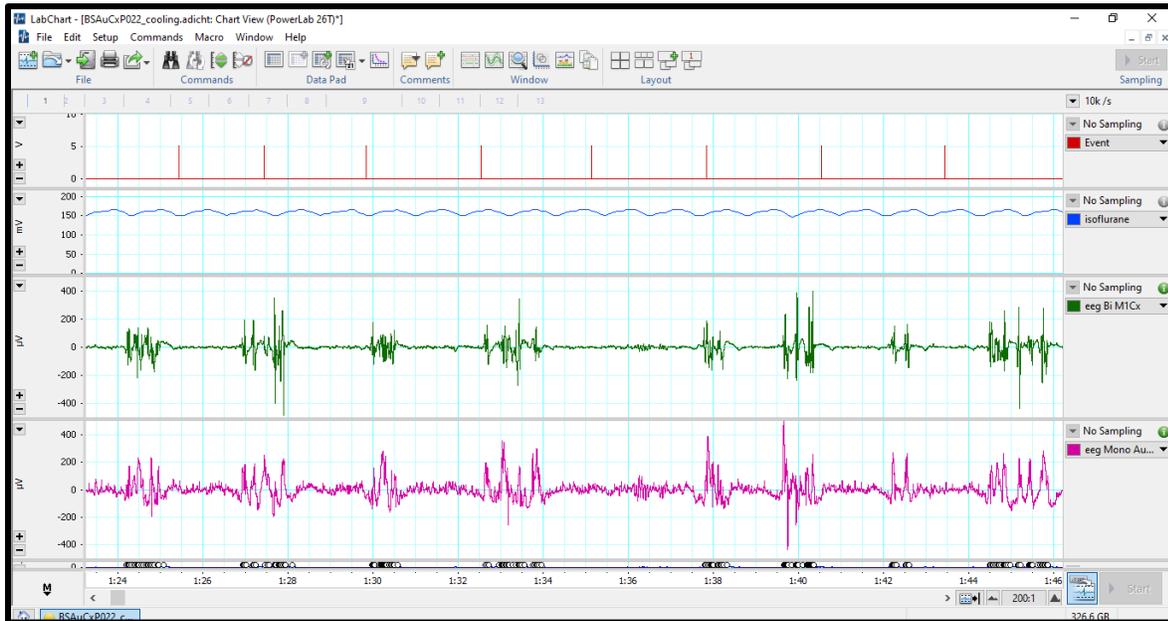


Figura 7. Imagen representativa del registro obtenido en LabChart.

### 3.9 Análisis estadístico

Todas las comparaciones entre diferentes estímulos y diferentes momentos fueron realizadas a través de pruebas de ANOVA de medidas repetidas de una vía, también se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey para evaluar la significancia de las diferencias entre grupos específicos de datos. Para los registros de inactivación cortical unilateral se utilizaron pruebas T pareadas de dos colas para verificar las diferencias entre el periodo de pre-inactivación y el periodo de inactivación. Para las correlaciones se utilizó el coeficiente de Pearson para evaluar la significancia de las correlaciones.

Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas si el valor p fue menor a 0.05. en las ilustraciones,  $p < 0.05$  fue representado como \*;  $p < 0.01$  fue representado como \*\*;  $p < 0.001$  fue representado como \*\*\*;  $p < 0.0001$  fue representado como \*\*\*\*. Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el software GraphPad Prism 6.

## 4. Resultados

### 4.1 La estimulación auditiva y visual disminuyen la BSR durante SC inducida por isoflurano en ratas.

La BSR basal (periodos sin estimulación "Ctrl") obtenida fue de  $72.63 \pm 7.9\%$  y no se modificó significativamente después de los periodos de estimulación ("Ctrl2":  $74.6 \pm 11.46\%$ ;  $n=8$ ;  $p=0.968$ ) (Figura 88). La estimulación auditiva de 2KHz indujo una reducción de la BSR a  $67.32 \pm 4.7\%$  la cual no fue significativa ( $n=8$ ;  $p=0.174$ ), por otro lado, la estimulación auditiva de 8KHz y la visual indujeron una reducción significativa del BSR a  $64.74 \pm 7.5\%$  y  $64.5 \pm 8.7\%$  respectivamente (Figura 88) ( $n=8$ ;  $p=0.0016$  y  $n=8$ ;  $p=0.0222$  respectivamente). La magnitud del cambio en la BSR inducida por los estímulos no se correlacionó significativamente con la BSR basal para los periodos de estimulación auditiva con 8KHz ( $R^2= 0.21$ ;  $p=0.038$ ) y para los periodos de estimulación visual con flash ( $R^2= 0.03$   $p=0.63$ ), por el contrario, el cambio inducido por la estimulación auditiva con 2KHz, se correlacionó significativamente y de forma lineal con la BSR basal ( $R^2= 0.74$ ;  $p=0.009$ ) (Figura 88)

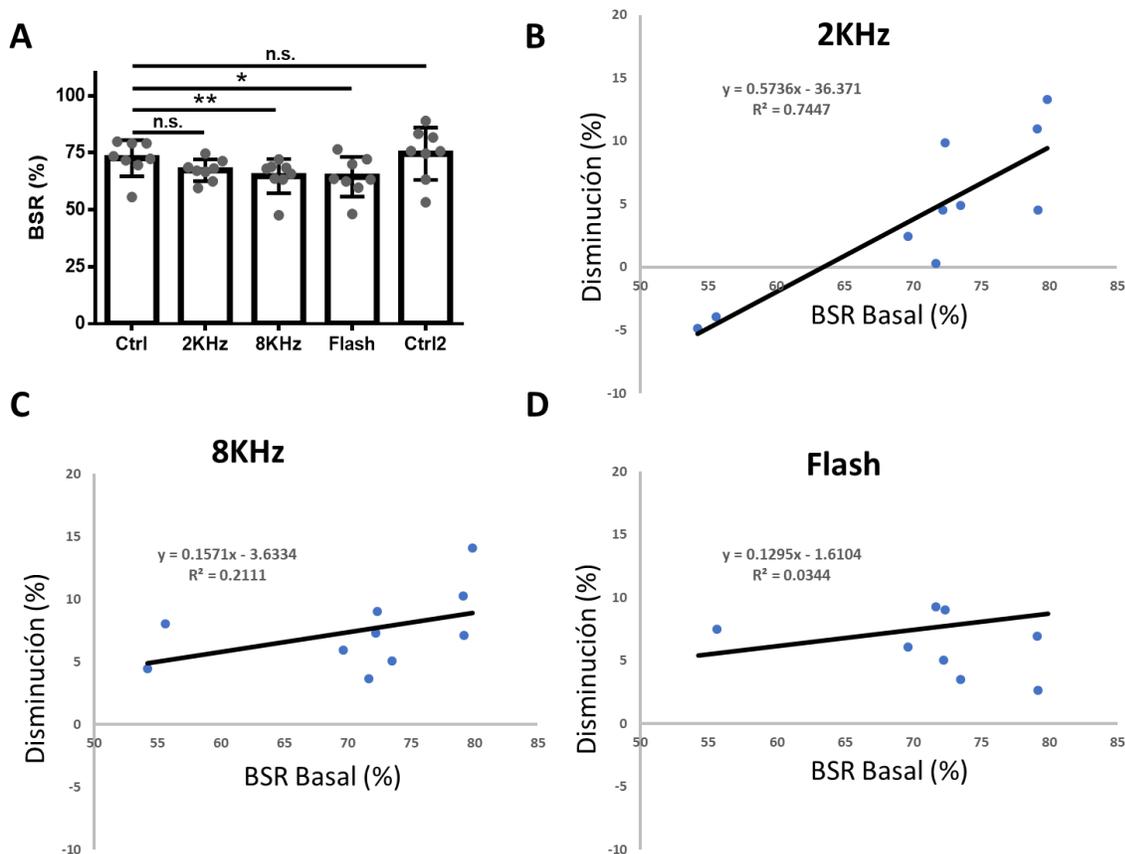


Figura 8. Efecto de la estimulación externa sobre la tasa de supresión (BSR).

**A)** BSR en la corteza motora (CM) bajo diferentes condiciones de estimulación Ctrl: periodo sin estimulación externa, antes de la estimulación externa; 2KHz, 8KHz y Flash: periodos de estimulación externa; Ctrl2: periodo sin estimulación externa, después de los periodos de estimulación externa. **B)** Correlación entre la BSR basal (eje x) y la disminución en el BSR (eje y) inducida por estimulación auditiva con 2KHz ( $p=0.009$ ). **C)** Correlación entre la BSR basal (eje x) y la disminución en el BSR (eje y) inducida por estimulación auditiva con 8KHz ( $p=0.38$ ). **D)** Correlación entre la BSR basal (eje x) y la disminución en el BSR (eje y) inducida por estimulación visual con Flash ( $p=0.63$ ). Se observa que la estimulación externa produce una disminución significativa en la BSR en la CM a excepción del periodo de estimulación auditiva con 2KHz en el cual la BSR basal influyo en la magnitud y la dirección del cambio en la BSR de la CM. El orden de los periodos de estimulación fue aleatorio Las barras representan el promedio y la desviación estándar; \*:  $p<0.05$ ; \*\*:  $p<0.01$ ; n.s.: no significativo.

## 4.2 Los estímulos auditivos y visuales producen diferentes ráfagas evocadas en la corteza auditiva primaria y la corteza motora durante SC inducida por isoflurano en ratas.

Tanto la estimulación auditiva como la estimulación visual indujo la generación de ráfagas en la corteza motora (CM) y en la corteza auditiva primaria (CAP); la tasa de éxito (porcentaje de estímulos capaces de generar una ráfaga; SR por sus siglas en inglés) en la generación de ráfagas evocadas por el estímulo fue similar entre los diferentes periodos de estimulación (2KHz:  $67.13 \pm 24.3\%$ ; 8KHz:  $74.17 \pm 15.7\%$ ; Flash:  $62.31 \pm 18.3\%$ ,  $n=9$ ;  $F=0.688$ ;  $p=0.2734$ ) (*Figura 9*).

Las ráfagas rectificadas evocadas por estimulación auditiva y visual se caracterizaron por presentar un pico de amplitud seguido por una disminución progresiva de la misma tanto en la corteza motora como en la corteza auditiva primaria (*Figura 9*). No hubo diferencias significativas entre la amplitud máxima de las ráfagas evocadas por estimulación auditiva con 2KHz (CM:  $97.39 \pm 67.1 \mu\text{V}$ ; CAP:  $64.32 \pm 25 \mu\text{V}$ ) y las evocadas con 8 KHz (CM:  $91.42 \pm 66.9 \mu\text{V}$ ,  $p=0.9388$ ; CAP:  $75.40 \pm 38.3 \mu\text{V}$ ,  $p=0.7172$ ). Las ráfagas evocadas por estimulación visual tuvieron una amplitud máxima significativamente menor en la corteza motora ( $57.39 \pm 26.3 \mu\text{V}$ ,  $p=0.0084$  vs 2KHz), en la corteza auditiva primaria no hubo diferencias significativas. No hubo diferencias entre las ráfagas evocadas por estimulación auditiva con 2KHz y con 8KHz (*Figura 9*). Las ráfagas evocadas por estimulación auditiva con 2KHz alcanzaron el 50% de la amplitud máxima con una latencia promedio de  $177.6 \pm 27.9$  ms en la corteza motora la cual fue significativamente mayor a la registrada en la corteza auditiva primaria ( $93.33 \pm 77.4$  ms  $p=0.0029$ ). En la misma dirección, las ráfagas evocadas por estimulación visual se presentaron con una latencia de  $297.1 \pm 75.45$  ms en la corteza motora y de  $258.9 \pm 53$  ms en la corteza auditiva primaria, sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ( $p=0.2737$ ). Las ráfagas evocadas por estimulación auditiva tuvieron una latencia significativamente menor a las evocadas por estimulación visual tanto en la CM ( $p < 0.0001$ ) como en la CAP ( $p < 0.0001$ ) (*Figura 9*).

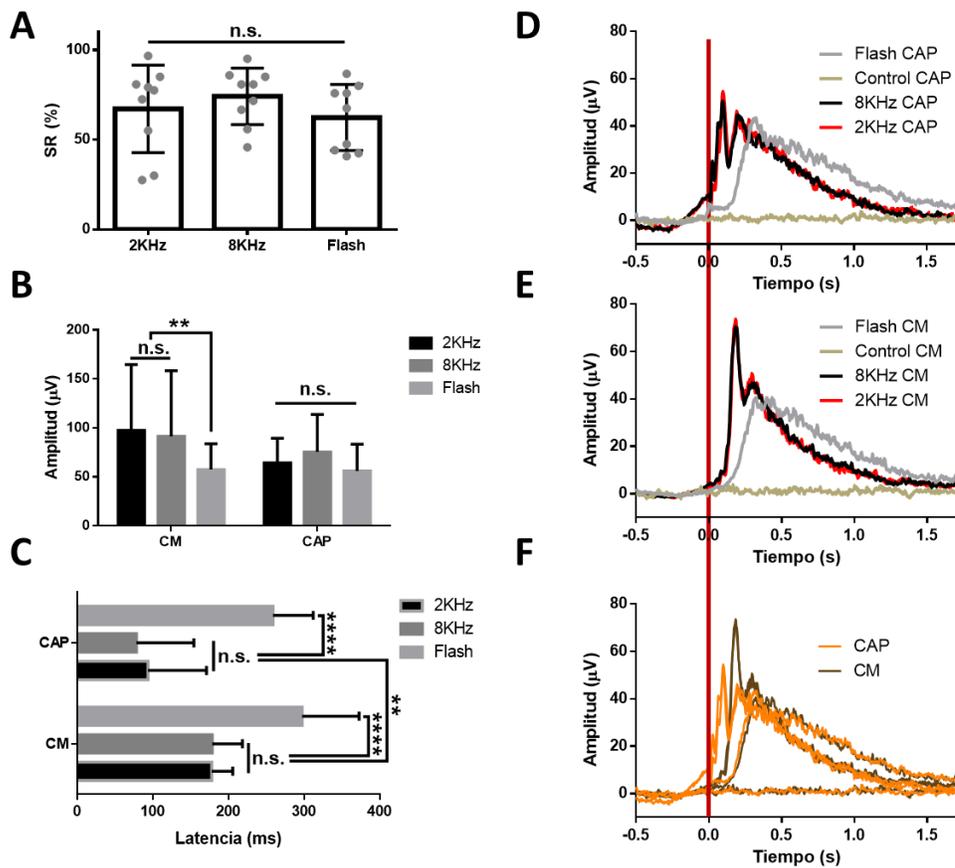


Figura 9. **Características de las ráfagas evocadas por estimulación externa.**

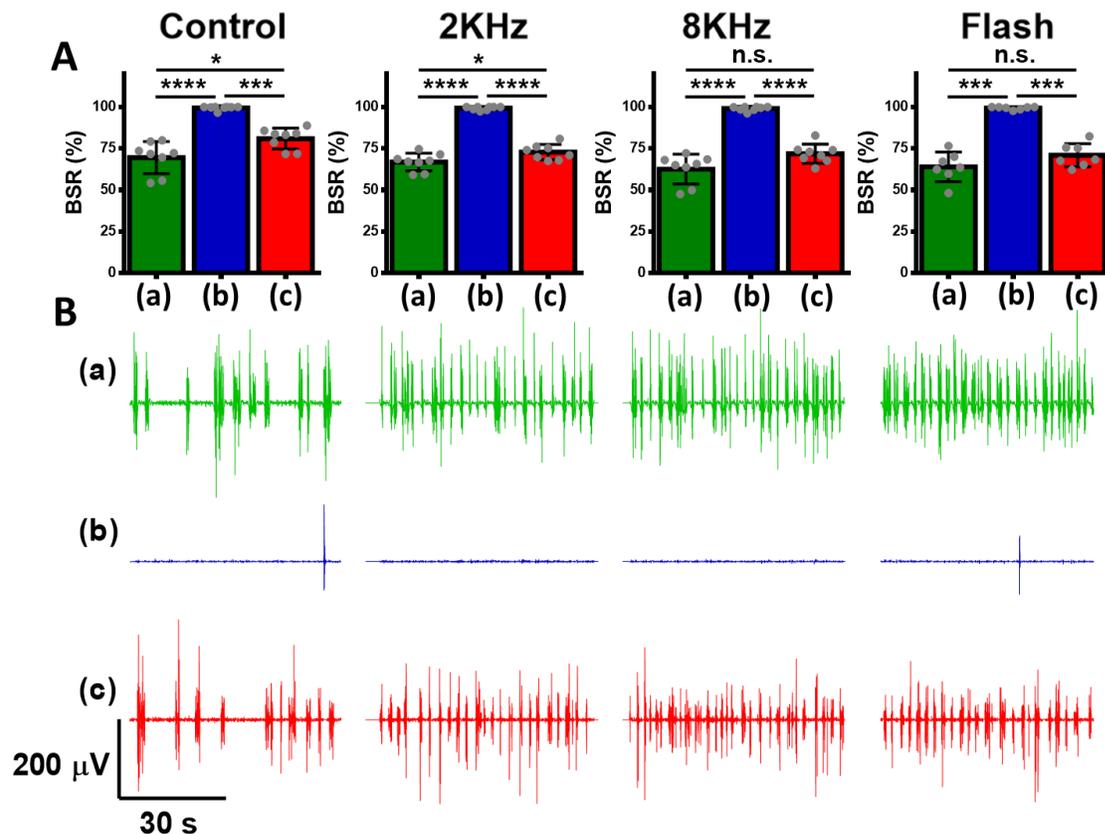
**A)** Tasa de éxito (SR) de las ráfagas evocadas por estimulación auditiva con 2KHz y 8KHz y por estimulación visual con Flash. **B)** Amplitud máxima de las ráfagas evocadas por estimulación auditiva con 2KHz y 8KHz y por estimulación visual con Flash en la corteza motora (CM) y en la corteza auditiva primaria (CAP). **C)** Latencia desde la presentación del estímulo hasta alcanzar el 50% de la amplitud máxima para las ráfagas evocadas por estimulación auditiva con 2KHz y 8KHz y por estimulación visual con Flash en la CM y la CAP. **D)** Trazos promedio de las ráfagas rectificadas evocadas por estimulación auditiva con 2KHz y 8KHz y por estimulación visual con Flash en la CAP. **E)** Trazos promedio de las ráfagas rectificadas evocadas por estimulación auditiva con 2KHz y 8KHz y por estimulación visual con Flash en la CM. **F)** Trazos promedio de las ráfagas rectificadas evocadas por estimulación auditiva con 2KHz y 8KHz y por estimulación visual con Flash en la CAP y en la CM. Se observa como las características de las ráfagas inducidas por estimulación auditiva no difieren entre sí, pero si difieren con las evocadas por un estímulo visual tanto en la amplitud máxima como la latencia. Además, también se observa que las ráfagas evocadas por estimulación auditiva ocurren con una latencia menor en la CAP que en la CM. La línea roja proyecta el punto donde se presentó el estímulo. Las barras representan el promedio y la desviación estándar; \*\*:  $p < 0.01$ ; \*\*\*\*:  $p < 0.0001$ ; n.s.: no significativo.

### **4.3 La inactivación de la corteza auditiva primaria por medio de enfriamiento cortical bilateral incrementa significativamente la BSR en la corteza motora durante SC inducida por isoflurano.**

La temperatura de la superficie cortical durante el periodo de pre-inactivación fue en promedio de  $31.33 \pm 0.6^\circ\text{C}$ , durante la inactivación fue  $7.4 \pm 1.8^\circ\text{C}$  y durante la recuperación fue de  $30.3 \pm 1.4^\circ\text{C}$ . La inactivación cortical bilateral de la corteza auditiva primaria por enfriamiento provocó un aumento significativo del BSR tanto en periodos sin estimulación como en los periodos con estimulación auditiva y visual. El cual pasó de  $69.50 \pm 9.6\%$  a  $99.48 \pm 1.1\%$  en el registro control ( $n=8$ ;  $p < 0.0001$ ), de  $66.84 \pm 5.3\%$  a  $99.27 \pm 1.04\%$  en la estimulación auditiva con 2KHz ( $n=8$ ;  $p < 0.0001$ ), de  $62.56 \pm 8.9\%$  a  $99.05 \pm 1.35\%$  en la estimulación auditiva con 8KHz ( $n=8$ ;  $p < 0.0001$ ) y de  $63.94 \pm 8.9\%$  a  $99.33 \pm 0.8\%$  en la estimulación visual con el flash ( $n=7$ ;  $p < 0.0002$ ) (*Figura 10*).

Este aumento fue significativamente revertido con la recuperación de la temperatura cortical a los valores basales en todos los registros; en el registro control se redujo a  $80.96 \pm 5.3\%$  ( $n=8$ ;  $p=0.0001$ ), en el registro con 2KHz se redujo a  $72.79 \pm 4.5\%$  ( $n=8$ ;  $p < 0.0001$ ) en el registro con 8KHz se redujo a  $71.86 \pm 5.7\%$  ( $n=8$ ;  $p < 0.0001$ ) y en el registro con el flash se redujo a  $70.92 \pm 7\%$  ( $n=7$ ;  $p=0.0001$ ).

Las BSR tendieron a ser mayores en los periodos post enfriamiento comparados con los obtenidos en el de pre-inactivación, esta tendencia fue estadísticamente significativa para los registros control y con estímulo auditivo de 2KHz ( $p=0.0064$  y  $p=0.0355$  respectivamente), pero no con estímulo auditivo de 8KHz y con estímulo visual con Flash ( $p=0.0606$  y  $p=0.2165$ , respectivamente).



**Figura 10. Efecto de la inactivación reversible bilateral de la corteza auditiva primaria (CAP) sobre la tasa de supresión (BSR) en la corteza motora (CM).**

**A**) BSR en la CM en los momentos (a) Pre-inactivación (verde), (b) Inactivación (azul) y (c) Recuperación (rojo) en los periodos de estimulación auditiva con 2KHz y con 8KHz y de estimulación visual con Flash, además del periodo control (sin estimulación). **B**) Trazos representativos de EEG en la CM de uno de los animales durante cada uno de los momentos y durante los periodos de estimulación auditiva con 2KHz y con 8KHz y de estimulación visual con Flash, además del periodo control (sin estimulación). Se observa una desaparición casi completa de las ráfagas durante el periodo de inactivación que es revertida durante el periodo de recuperación (rojo) en cada uno de los periodos de estimulación externa y en el periodo control. Las barras representan el promedio y la desviación estándar, los puntos grises representan los valores de cada individuo; \*\*\*,  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ; n.s.: no significativo.

#### **4.4 Es necesario que la inactivación de la corteza auditiva primaria sea bilateral para incrementar significativamente el BSR en la corteza motora durante SC inducida por isoflurano e impedir la generación de ráfagas en la misma y en la corteza auditiva primaria contralateral.**

La inactivación unilateral no produjo un aumento significativo en el BSR. Sin embargo, se encontró una tendencia a incrementar la BSR en la corteza motora cuando se realizó inactivación unilateral derecha (pre inactivación:  $69.2 \pm 7.9\%$ ; durante inactivación:  $85.76 \pm 3.1\%$   $p=0.078$ ), y una tendencia a disminuirla con la inactivación unilateral izquierda (pre inactivación:  $84.96 \pm 3\%$ ; durante inactivación:  $79.03 \pm 6.4\%$ ;  $n=3$   $p=0.0645$ ), sin embargo ninguna de las dos tendencias fue estadísticamente significativa (*Figura 11*).

Durante la inactivación unilateral izquierda y registro de EEG en la corteza auditiva primaria derecha, la estimulación auditiva con 2KHz produjo ráfagas evocadas en ambas cortezas con una tasa de éxito similar a la obtenida en los registros basales (MC inactivación unilateral izquierda:  $62.62 \pm 17.1\%$  e inactivación unilateral derecha  $63.21 \pm 6.4\%$  vs  $67.13 \pm 24.3\%$   $p=0.9316$ ;  $F:0.017$ ). Por otro lado, la inactivación unilateral derecha impidió la generación de ráfagas evocadas por la estimulación auditiva con 2KHz en la corteza auditiva primaria derecha sin impedirlo en la corteza motora, en la cual tampoco se modificó la tasa de éxito. La temperatura de la superficie cortical de la CAP derecha durante el periodo de pre-inactivación para estos experimentos fue de  $30^{\circ}\text{C}$  para la inactivación unilateral izquierda y  $30.5^{\circ}\text{C}$  para la inactivación unilateral derecha, durante el periodo de enfriamiento la temperatura fue de  $30^{\circ}\text{C}$  para la inactivación unilateral izquierda y de  $3.1^{\circ}\text{C}$  para la inactivación unilateral derecha.

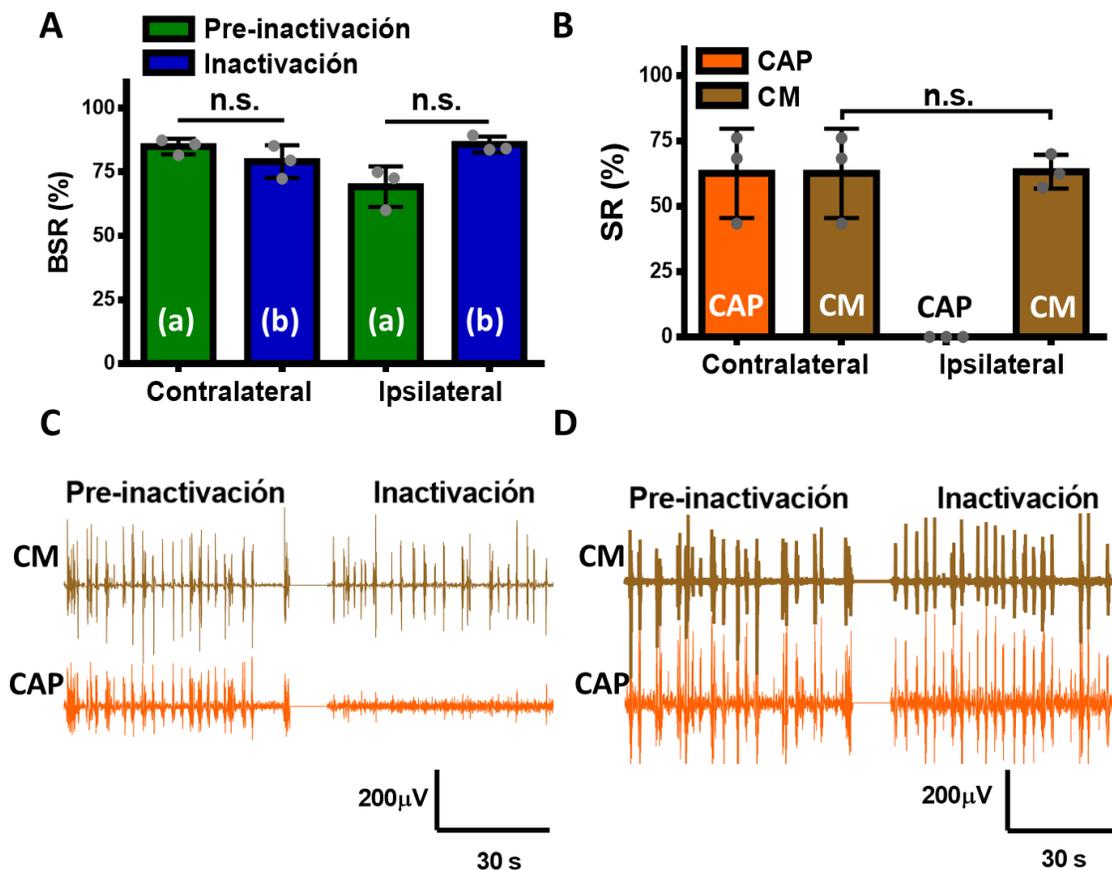


Figura 11. **Inactivación unilateral de la corteza auditiva primaria (CAP).**

**A)** Tasa de supresión (BSR) en la corteza motora (CM) durante el momento pre-inactivación (a) y el momento de inactivación (b) en la inactivación unilateral contralateral e ipsilateral durante periodos control (sin estimulación externa). **B)** Tasa de éxito (SR) de las ráfagas evocadas por estimulación auditiva con 2KHz en la corteza auditiva primaria (CAP) (naranja) y la CM (café) durante el momento de inactivación durante la inactivación unilateral de la CAP izquierda (contralateral) y derecha (ipsilateral). **C)** Trazado representativo del EEG en la CM (café) y en la CAP (naranja) antes (pre-inactivación) y durante (inactivación) la inactivación unilateral de la CAP derecha. **D)** Trazado representativo del EEG en la CM (café) y en la CAP (naranja) antes (pre-inactivación) y durante (inactivación) la inactivación unilateral de la CAP izquierda. Se observa como la inactivación unilateral de la CAP no afecta ni la BSR ni la SR en la CM, solo afecta estos valores en la CAP cuando la inactivación es ipsilateral. Las barras representan el promedio y la desviación estándar, los puntos grises representan los valores de cada individuo; n.s.: no significativo.

## 5. Discusión

En este trabajo se evaluó en ratas el efecto de la estimulación auditiva y de la estimulación visual sobre la BSR en el patrón electroencefalográfico de SC y se estudió el efecto de la inactivación reversible de corteza auditiva primaria sobre las características de este patrón, también se estudiaron las características de las ráfagas evocadas por estas dos modalidades de estimulación. Estudios previos han explorado la influencia de la estimulación sensorial sobre el registro electroencefalográfico durante anestesia general con isoflurano en diferentes especies (Antunes, Golledge, Roughan, & Flecknell, 2003; Călin et al., 2014; K. Hartikainen et al., 1995; K. Hartikainen & Rorarius, 1999; K. M. Hartikainen et al., 1995; Hudetz & Imas, 2007; Porkkala, Jäntti, Kaukinen, & Häkkinen, 1994; Porkkala, Kaukinen, Häkkinen, & Jäntti, 1997; Rojas et al., 2008; Yli-Hankala, Jäntti, Pyykkö, & Lindgren, 1993); de estos solo tres han sido realizados en ratas (Antunes et al., 2003; Hudetz & Imas, 2007; Rojas et al., 2008) y uno en ratones (Land et al., 2012). El efecto de la estimulación visual y auditiva sobre la BSR y las ráfagas evocadas solo ha sido comparado en ratones (Land et al., 2012). Por lo tanto, este es el primer estudio que evalúa y compara tanto el efecto sobre la BSR como las características de las ráfagas evocadas por la estimulación visual y auditiva en ratas. Por otro lado, el efecto de la inactivación reversible de la corteza auditiva primaria no había sido evaluado en ninguno de los trabajos revisados y la única evidencia experimental previa relacionada con la participación de zonas específicas en la generación de las ráfagas evocadas fue realizado en la corteza visual y el *subiculum* de ratones (Land et al., 2012).

La estimulación auditiva con 8KHz y visual produjeron una disminución de la BSR de alrededor del 10% la cual fue similar a la disminución reportada en ratas con estimulación auditiva no familiar (Rojas et al., 2008); el hecho de que en ese estudio la BSR sin estimulación fue de 82.3% y que la obtenida en este trabajo fue de 72.6%, junto a la no correlación encontrada entre la BSR inicial y la disminución inducida por la estimulación en el caso de el Flash y estimulación de 8KHz, hace pensar que para estas condiciones la

magnitud de la disminución es independiente de la BSR basal. Por el contrario, con la estimulación auditiva con 2KHz se encontró una correlación lineal directa entre la BSR y la disminución inducida, lo cual puede explicar en parte por qué la disminución no fue estadísticamente significativa y además soporta los resultados del trabajo de Rojas et al., (2008) que muestran como diferentes sonidos tienen diferentes efectos sobre la BSR. No existen reportes previos del efecto de la estimulación visual sobre el BSR en ratas, pero los resultados de este trabajo permiten inferir que el efecto de la estimulación con un Flash es similar al que se logra con sonidos inespecíficos o no familiares como los evocados con 8KHz en este trabajo o los reportados por Rojas et al., (2008).

No existen reportes previos de la tasa de éxito en la generación de ráfagas evocadas por la estimulación auditiva o visual en ratas; en humanos está reportado que los estímulos auditivos tienen una tasa de éxito cercana 80% (K. Hartikainen & Rorarius, 1999) la cual es un poco más alta que encontrada en este trabajo (74% para 8KHz); esto se puede explicar dado que el estímulo utilizado por K. Hartikainen & Rorarius, (1999) fue un tren de estímulos de 3 segundos de duración con un intervalo entre estímulos mayor a 20 segundos y administrado cuando el electroencefalograma estaba en supresión, lo cual difiere del utilizado en el presente trabajo (20ms, 2-3 segundos entre estímulos) en donde la probabilidad de rechazo de las ráfagas aumenta con la probabilidad de que el estímulo haya sido presentado cuando el registro no estaba en supresión. Los resultados encontrados indican que no existen diferencias entre los tres tipos de estimulación evaluados; tampoco se evidenció correlación de esta tasa de éxito con la BSR basal ni con la BSR de ese mismo momento ni con la disminución en la BSR inducida por la estimulación, la duración de las ráfagas también fue similar. Lo anterior podría indicar que la disminución de la BSR y las diferencias en esta disminución entre la estimulación con 2KHz y la estimulación con 8KHz no dependen directamente de las características de las ráfagas evocadas por cada tipo de estimulación.

Las ráfagas evocadas en la corteza motora por estimulación auditiva de 2KHz y de 8KHz de frecuencia compartieron las mismas características de amplitud máxima, latencia y duración, contrario a las ráfagas evocadas por estimulación visual, que tuvieron una amplitud máxima menor y una latencia mayor. Estos resultados concuerdan con lo propuesto en ratones por Land et al., (2012), en cuyo trabajo registraron las ráfagas

evocadas por estímulos visual y auditivo en la corteza visual primaria y encontró que las ráfagas evocadas por estímulo visual tienen una latencia menor que las evocadas por estímulo auditivo, con lo cual es posible que estas ráfagas evocadas por estimulación se generen en las cortezas primarias y luego se propaguen por toda la corteza, los resultados encontrados en el presente experimento soportan esta hipótesis y la fortalece el hecho de que las ráfagas inducidas por estimulación auditiva y visual tuvieran una latencia menor en la corteza auditiva primaria que la observada en la corteza motora. En el caso de las ráfagas evocadas por estimulación auditiva la diferencia de latencia entre las dos cortezas fue estadísticamente significativa y corresponde con las velocidades de propagación reportadas en la corteza cerebral de ratas (50-200 $\mu$ m/ms) (Takagaki, Zhang, Wu, & Lippert, 2008; Xu, Huang, Takagaki, & Wu, 2007) teniendo en cuenta la distancia estimada entre la corteza motora y la corteza auditiva primaria (~8 mm) y la diferencia entre las latencias (84 ms). Por otro lado, la diferencia entre latencias (40 ms) entre las dos cortezas no fue significativa para las ráfagas evocadas por estímulo visual probablemente porque la corteza auditiva primaria no es necesariamente un punto intermedio de paso obligado para la propagación de ráfagas provenientes de la corteza visual primaria, no obstante, hace falta información experimental que respalde esta teoría.

La temperatura cortical antes, durante y después de la inactivación de la corteza auditiva primaria fue similar a las reportadas en trabajos anteriores (Anderson & Malmierca, 2013; Coomber et al., 2011; Wood, Town, Atilgan, Jones, & Bizley, 2017). La inactivación de la corteza auditiva primaria incrementó la BSR a valores cercanos a cien, lo que en otras palabras significa que abolió por completo la generación de ráfagas, exceptuando algunas descargas esporádicas. Fue imposible generar ráfagas evocadas por estimulación tanto auditiva como visual y no hubo presencia de ráfagas espontáneas. Tanto las ráfagas espontáneas como evocadas, gradualmente volvieron a presentarse tan pronto como se le permitió a la corteza recuperar la temperatura inicial y la BSR se recuperó hasta alcanzar valores similares a los iniciales.

Ante estos resultados, en tres de los animales se realizó inactivación unilateral de la corteza auditiva primaria en cada uno de los dos lados y se comprobó que la inactivación unilateral de cualquiera de los lados no afecta significativamente la BSR de la corteza motora, ni tampoco la temperatura de la corteza auditiva primaria contralateral a la inactivada. Por tanto, el funcionamiento de la corteza auditiva primaria debe cumplir un rol

importante en la generación y/o propagación de todas las ráfagas durante el patrón electroencefalográfico de SC inducido por isoflurano.

Dada la cercanía de la corteza auditiva con las cortezas de asociación temporales, se puede considerar que una posible explicación a la eliminación de las ráfagas se debe a que se hayan inactivado también estas cortezas y que se en estas donde se compute la actividad de las cortezas primarias y se lleve al tálamo donde esta actividad puede ser proyectada al resto de la corteza.

## 6. Conclusiones y perspectivas

### 6.1 Conclusiones

- Las ráfagas evocadas por estimulación auditiva y visual se presentan con diferentes latencias en la CAP y en la CM.
- Las características de las ráfagas evocadas por estimulación auditiva no son específicas de la frecuencia del sonido.
- Estímulos auditivos de 2KHz y de 8KHz, afectan de forma diferente la BSR y este efecto puede ser dependiente la BSR basal.
- La inactivación de la CAP impide la generación y/o propagación de ráfagas espontáneas y evocadas por la estimulación externa utilizada en este trabajo.
- La CAP está involucrada en la generación y/o propagación de las ráfagas evaluadas en este trabajo durante el patrón electroencefalográfico de SC inducido por isoflurano

### 6.2 Perspectivas

Los resultados obtenidos en el presente trabajo abren el camino a nuevas preguntas en el entendimiento de los mecanismos y las dinámicas detrás de las características más conservadas de la SC.

El hecho de que no existan diferencias en las características de las ráfagas evocadas por estimulación auditiva de 2KHz contra las de 8KHz, pero de todas formas la primera afecte la BSR dependiendo de la BSR basal, abre la posibilidad de nuevos experimentos explorando las correlaciones entre el nivel basal y la frecuencia del sonido administrado.

Las diferencias en latencia entre cortezas y entre modalidades sensoriales permite plantear la posibilidad de hacer un estudio mas detallado de la dinámica de la propagación, ya sea evaluando en más áreas corticales de forma simultanea o explorando la participación de cada una de las capas de la corteza lo cual puede ser evaluado utilizando electrodos de múltiples canales en dos o mas zonas de la corteza.

Las diferencias en las características de las ráfagas entre modalidades sensoriales permite también preguntarse como ocurren estas modificaciones; lo anterior teniendo en cuenta que el estudio de Land et al., (2012) reporta ráfagas evocadas por estimulación visual muy similares a las que se encontraron en este trabajo evocadas con estimulación auditiva y viceversa.

Como ya ha sido reportado (Rojas et al., 2008), la BSR puede ser usada como marcador de la relación del animal con sonidos particulares y los resultados de este trabajo soportan esa idea; una posible dirección en nuevos proyectos puede llevar a explorar fenómenos relacionados con la formación y/o extinción de memorias durante anestesia general con isoflurano.

A pesar de lo consistentes de los resultados del impacto de la inactivación de la CAP sobre la generación de ráfagas, es necesario replicar estos resultados, ya sea por medio de métodos invasivos como la ablación cortical de la CAP (Lamas et al., 2017), o con el uso de herramientas moleculares como los DREADDs (Smith et al., 2016) u opto-genética (Weible et al., 2014) y evaluar el papel de zonas corticales adyacentes a la CAP que se pudieron ver afectados por la inactivación.

Deben explorarse los mecanismos por los cuales la inactivación de la CAP impide la generación de ráfagas durante la SC inducida por isoflurano.

**A. Anexo:**

**Documento CB-FMVZ-UN-043-17,  
aprobación del proyecto  
“Determinación de la participación de  
la corteza auditiva en los cambios  
inducidos por estimulación auditiva en  
el patrón electroencefalográfico de  
supresión cortical (CS)” por parte del  
comité de bioética de la Facultad de  
Medicina Veterinaria y de Zootecnia.**

40 DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE LA CORTEZA AUDITIVA EN  
LOS CAMBIOS INDUCIDOS POR ESTIMULACIÓN AUDITIVA EN EL  
PATRÓN ELECTROENCEFALOGRÁFICO DE SUPRESIÓN CORTICAL(CS)

Comité de Bioética  
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia  
Sede Bogotá



Bogotá D.C., 28 de agosto de 2017

[CB-FMVZ-UN-043-17]

Doctor  
**MANUEL JOAQUÍN ROJAS BARRETO**  
Profesor Asociado  
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia  
Universidad Nacional de Colombia

Apreciado Doctor Rojas.

Amablemente le comunico que el Comité de Bioética en sesión virtual del 01 al 04 de agosto de 2017, Acta 07, luego de la revisión de la documentación y aclaraciones referentes al siguiente proyecto, acordó emitir el respectivo concepto, así:

Proyecto	"DETERMINACIÓN DE LA PARTICIPACIÓN DE LA CORTEZA AUDITIVA EN LOS CAMBIOS INDUCIDOS POR ESTIMULACIÓN AUDITIVA EN EL PATRÓN ELECTROENCEFALOGRÁFICO DE SUPRESIÓN CORTICAL (CS)".
Responsables del proyecto	<b>Investigador principal:</b> Dr. Manuel Joaquín Rojas. Profesor FMVZ, UN. <b>Estudiante:</b> Manuel David Suárez. Maestría en Fisiología, Fac. Medicina, UN.
Concepto	<b>AVALADO</b>

Es importante tener en cuenta que **este concepto sólo aplica para los procedimientos en las condiciones y con las características indicadas en el formato final y documentos presentados**. El investigador deberá informar sobre cualquier cambio que se proponga incluir y que esté relacionado con la ubicación, el cuidado y bienestar de los animales, estas modificaciones no podrán ejecutarse sin el aval previo del Comité; así mismo, se debe dar aviso sobre cualquier situación imprevista que se considere implique algún riesgo para los animales o la comunidad o el medio en el cual se lleva a cabo el estudio.

Cordialmente,

**LUCÍA BOTERO ESPINOSA**  
Coordinadora Comité de Bioética  
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia



## Bibliografía

- Amzica, F. (2009). Basic physiology of burst-suppression. *Epilepsia*, 50 Suppl 12, 38-39. doi:10.1111/j.1528-1167.2009.02345.x
- Amzica, F. (2015). What does burst suppression really mean? *Epilepsy Behav*, 49, 234-237. doi:10.1016/j.yebeh.2015.06.012
- Amzica, F., & Kroeger, D. (2011). Cellular mechanisms underlying EEG waveforms during coma. *Epilepsia*, 52 Suppl 8, 25-27. doi:10.1111/j.1528-1167.2011.03229.x
- Anderson, L. A., & Malmierca, M. S. (2013). The effect of auditory cortex deactivation on stimulus-specific adaptation in the inferior colliculus of the rat. *Eur J Neurosci*, 37(1), 52-62. doi:10.1111/ejn.12018
- Antunes, L. M., Golledge, H. D., Roughan, J. V., & Flecknell, P. A. (2003). Comparison of electroencephalogram activity and auditory evoked responses during isoflurane and halothane anaesthesia in the rat. *Vet Anaesth Analg*, 30(1), 15-23.
- Brown, E. N., Lydic, R., & Schiff, N. D. (2010). General anesthesia, sleep, and coma. *N Engl J Med*, 363(27), 2638-2650. doi:10.1056/NEJMra0808281
- Bruhn, J., Bouillon, T. W., & Shafer, S. L. (2000). Bispectral index (BIS) and burst suppression: revealing a part of the BIS algorithm. *J Clin Monit Comput*, 16(8), 593-596.
- Chemali, J. J., Wong, K. F., Solt, K., & Brown, E. N. (2011). A state-space model of the burst suppression ratio. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 2011, 1431-1434. doi:10.1109/IEMBS.2011.6090354
- Chen, C., Maybhate, A., Thakor, N. V., & Jia, X. (2013). Effect of hypothermia on cortical and thalamic signals in anesthetized rats. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 2013, 6317-6320. doi:10.1109/EMBC.2013.6610998
- Ching, S., Purdon, P. L., Vijayan, S., Kopell, N. J., & Brown, E. N. (2012). A neurophysiological-metabolic model for burst suppression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(8), 3095-3100. doi:10.1073/pnas.1121461109
- Coomber, B., Edwards, D., Jones, S. J., Shackleton, T. M., Goldschmidt, J., Wallace, M. N., & Palmer, A. R. (2011). Cortical inactivation by cooling in small animals. *Front Syst Neurosci*, 5, 53. doi:10.3389/fnsys.2011.00053
- Călin, A., Kumaraswamy, V. M., Braver, D., Nair, D. G., Moldovan, M., & Simon, M. V. (2014). Intraoperative somatosensory evoked potential monitoring decreases EEG burst suppression ratio during deep general anesthesia. *J Clin Neurophysiol*, 31(2), 133-137. doi:10.1097/WNP.0000000000000034

- Doron, N. N., Ledoux, J. E., & Semple, M. N. (2002). Redefining the tonotopic core of rat auditory cortex: physiological evidence for a posterior field. *J Comp Neurol*, 453(4), 345-360. doi:10.1002/cne.10412
- Ebbesen, C. L., Doron, G., Lenschow, C., & Brecht, M. (2017). Vibrissa motor cortex activity suppresses contralateral whisking behavior. *Nat Neurosci*, 20(1), 82-89. doi:10.1038/nn.4437
- Ferron, J. F., Kroeger, D., Chever, O., & Amzica, F. (2009). Cortical inhibition during burst suppression induced with isoflurane anesthesia. *J Neurosci*, 29(31), 9850-9860. doi:10.1523/JNEUROSCI.5176-08.2009
- Franks, N. P. (2008). General anaesthesia: from molecular targets to neuronal pathways of sleep and arousal. *Nat Rev Neurosci*, 9(5), 370-386. doi:10.1038/nrn2372
- Hartikainen, K., Rorarius, M., Mäkelä, K., Peräkylä, J., Varila, E., & Jäntti, V. (1995). Visually evoked bursts during isoflurane anaesthesia. *Br J Anaesth*, 74(6), 681-685. doi:10.1093/bja/74.6.681
- Hartikainen, K., & Rorarius, M. G. (1999). Cortical responses to auditory stimuli during isoflurane burst suppression anaesthesia. *Anaesthesia*, 54(3), 210-214. doi:10.1046/j.1365-2044.1999.00300.x
- Hartikainen, K. M., Rorarius, M., Peräkylä, J. J., Laippala, P. J., & Jäntti, V. (1995). Cortical reactivity during isoflurane burst-suppression anesthesia. *Anesth Analg*, 81(6), 1223-1228. doi:10.1097/00000539-199512000-00018
- Hasfeldt, D., Laerkner, E., & Birkelund, R. (2010). Noise in the operating room--what do we know? A review of the literature. *J Perianesth Nurs*, 25(6), 380-386. doi:10.1016/j.jopan.2010.10.001
- Hudetz, A. G., & Imas, O. A. (2007). Burst activation of the cerebral cortex by flash stimuli during isoflurane anesthesia in rats. *Anesthesiology*, 107(6), 983-991. doi:10.1097/01.anes.0000291471.80659.55
- Kenny, J. D., Westover, M. B., Ching, S., Brown, E. N., & Solt, K. (2014). Propofol and sevoflurane induce distinct burst suppression patterns in rats. *Front Syst Neurosci*, 8, 237. doi:10.3389/fnsys.2014.00237
- Kissin, I. (2000). Depth of anesthesia and bispectral index monitoring. *Anesth Analg*, 90(5), 1114-1117. doi:10.1097/00000539-200005000-00021
- Kreuer, S., Bruhn, J., Larsen, R., Grundmann, U., Shafer, S. L., & Wilhelm, W. (2004). Application of Bispectral Index and Narcotrend index to the measurement of the electroencephalographic effects of isoflurane with and without burst suppression. *Anesthesiology*, 101(4), 847-854. doi:10.1097/00000542-200410000-00008
- Kroeger, D., & Amzica, F. (2007). Hypersensitivity of the anesthesia-induced comatose brain. *J Neurosci*, 27(39), 10597-10607. doi:10.1523/JNEUROSCI.3440-07.2007
- Lamas, V., Estévez, S., Pernía, M., Plaza, I., & Merchán, M. A. (2017). Stereotactically-guided Ablation of the Rat Auditory Cortex, and Localization of the Lesion in the Brain. *J Vis Exp*(128). doi:10.3791/56429

- Land, R., Engler, G., Kral, A., & Engel, A. K. (2012). Auditory evoked bursts in mouse visual cortex during isoflurane anesthesia. *PLoS One*, 7(11), e49855. doi:10.1371/journal.pone.0049855
- Liberman, M. Y., Ching, S., Chemali, J., & Brown, E. N. (2013). A closed-loop anesthetic delivery system for real-time control of burst suppression. *J Neural Eng*, 10(4), 046004. doi:10.1088/1741-2560/10/4/046004
- Liley, D. T., & Walsh, M. (2013). The Mesoscopic Modeling of Burst Suppression during Anesthesia. *Front Comput Neurosci*, 7, 46. doi:10.3389/fncom.2013.00046
- Liu, E. H., & Tan, S. (2000). Patients' perception of sound levels in the surgical suite. *J Clin Anesth*, 12(4), 298-302.
- Lomber, S. G. (1999). The advantages and limitations of permanent or reversible deactivation techniques in the assessment of neural function. *J Neurosci Methods*, 86(2), 109-117.
- Lomber, S. G., Payne, B. R., & Horel, J. A. (1999). The cryoloop: an adaptable reversible cooling deactivation method for behavioral or electrophysiological assessment of neural function. *J Neurosci Methods*, 86(2), 179-194.
- Melo, L. L., Brandão, M. L., Graeff, F. G., & Sandner, G. (1997). Bilateral ablation of the auditory cortex in the rat alters conditioned emotional suppression to a sound as appraised through a latent inhibition study. *Behav Brain Res*, 88(1), 59-65.
- Musizza, B., & Ribaric, S. (2010). Monitoring the depth of anaesthesia. *Sensors (Basel)*, 10(12), 10896-10935. doi:10.3390/s101210896
- Paxinos, G., & Watson, C. (1997). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (Third Edition ed.). USA: Academic Press Inc.
- Pedemonte, M., Testa, M., Díaz, M., & Suárez-Bagnasco, D. (2014). The Impact of Sound on Electroencephalographic Waves during Sleep in Patients Suffering from Tinnitus. *Sleep Sci*, 7(3), 143-151. doi:10.1016/j.slsci.2014.09.011
- Porkkala, T., Jäntti, V., Kaukinen, S., & Häkkinen, V. (1994). Somatosensory evoked potentials during isoflurane anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand*, 38(3), 206-210.
- Porkkala, T., Kaukinen, S., Häkkinen, V., & Jäntti, V. (1997). Median nerve somatosensory evoked potentials during isoflurane anaesthesia. *Can J Anaesth*, 44(9), 963-968. doi:10.1007/BF03011968
- Raz, A., Grady, S. M., Krause, B. M., Uhlrich, D. J., Manning, K. A., & Banks, M. I. (2014). Preferential effect of isoflurane on top-down vs. bottom-up pathways in sensory cortex. *Front Syst Neurosci*, 8, 191. doi:10.3389/fnsys.2014.00191
- Rojas, M. J., Navas, J. A., Greene, S. A., & Rector, D. M. (2008). Discrimination of auditory stimuli during isoflurane anesthesia. *Comp Med*, 58(5), 454-457.
- Rojas, M. J., Navas, J. A., & Rector, D. M. (2006). Evoked response potential markers for anesthetic and behavioral states. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 291(1), R189-196. doi:10.1152/ajpregu.00409.2005

- Smith, K. S., Bucci, D. J., Luikart, B. W., & Mahler, S. V. (2016). DREADDS: Use and application in behavioral neuroscience. *Behav Neurosci*, *130*(2), 137-155. doi:10.1037/bne0000135
- Steriade, M., Amzica, F., & Contreras, D. (1994). Cortical and thalamic cellular correlates of electroencephalographic burst-suppression. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, *90*(1), 1-16.
- Takagaki, K., Zhang, C., Wu, J. Y., & Lippert, M. T. (2008). Crossmodal propagation of sensory-evoked and spontaneous activity in the rat neocortex. *Neurosci Lett*, *431*(3), 191-196. doi:10.1016/j.neulet.2007.11.069
- Urrego, J. A., Greene, S. A., & Rojas, M. J. (2014). Brain burst suppression activity. *Psychology & Neuroscience*, *7*(4), 531-543. doi:10.3922/j.psns.2014.4.12
- Velluti, R. A. (1997). Interactions between sleep and sensory physiology. *J Sleep Res*, *6*(2), 61-77.
- Weible, A. P., Liu, C., Niell, C. M., & Wehr, M. (2014). Auditory cortex is required for fear potentiation of gap detection. *J Neurosci*, *34*(46), 15437-15445. doi:10.1523/JNEUROSCI.3408-14.2014
- Wood, K. C., Town, S. M., Atilgan, H., Jones, G. P., & Bizley, J. K. (2017). Acute Inactivation of Primary Auditory Cortex Causes a Sound Localisation Deficit in Ferrets. *PLoS One*, *12*(1), e0170264. doi:10.1371/journal.pone.0170264
- Xu, W., Huang, X., Takagaki, K., & Wu, J. Y. (2007). Compression and reflection of visually evoked cortical waves. *Neuron*, *55*(1), 119-129. doi:10.1016/j.neuron.2007.06.016
- Yli-Hankala, A., Jäntti, V., Pyykkö, I., & Lindgren, L. (1993). Vibration stimulus induced EEG bursts in isoflurane anaesthesia. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, *87*(4), 215-220.