

# **BIOMIMÉTICA NEURONAL DEL SISTEMA SENSORIAL PERIFÉRICO DE LAS VIBRISAS DE LA RATA**

**AUTOR: Ing. PIZÁ Álvaro Gabriel**

**DIRECTOR: Dra. ALBARRACÍN Ana Lía**

**CO-DIRECTOR: Dr. FARFÁN Fernando Daniel**

## Dedicatoria

*A Sonia, mi mamá.*

## Agradecimientos

Debo agradecer de manera especial y sincera a la Dra. Ana Lía Albarracín y al Dr. Fernando Daniel Farfán por aceptarme para realizar esta tesis doctoral bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo y sus capacidades para guiar mis ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigador. Las ideas propias, siempre enmarcadas en su orientación y rigurosidad, han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado juntos, el cual no se puede concebir sin su siempre oportuna participación. Quiero expresar también mi más sincero agradecimiento al Dr. Eduardo Fernández y a la Dra. Cristina Soto Sánchez por abrirme las puertas de su instituto y permitirme formar parte de su laboratorio en mi agradable estancia en España. Vivir allí fue una experiencia invaluable tanto académica como personalmente. A Facundo, Jorge, Juan Carlos y Pablo por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de esta tesis. Debo destacar que, sin los conocimientos que ellos me transfirieron en su lugar de compañeros, este trabajo no hubiese sido posible. No cabe duda que su participación ha enriquecido el trabajo realizado y, además, ha significado el surgimiento de una sólida amistad. Al Laboratorio de Medios e Interfases y todos sus integrantes, que día a día crearon un ambiente agradable para trabajar y divertirse en los momentos de descanso. Al Consejo Superior de investigaciones Biológicas, quien financió la totalidad de mi doctorado y brindó fondos para los experimentos realizados. A mi papá y mis hermanos María, Marcelo y Benjamín quienes incondicionalmente apoyaron siempre mis ideas y proyectos, aunque eso signifique vivir lejos de ellos. Y finalmente, quiero agradecer a la persona más importante de mi vida, Eliana, mi novia. Por su amor, apoyo y compañía desde hace más de 4 años. Ella me ayudó a ser fuerte en los momentos difíciles, a ser objetivo en los momentos de duda y sobre todo a ser feliz sin importar lo que suceda.

## Publicaciones que fundamentan esta tesis

### Artículos en revistas

**Pizá AG**, Farfán FD, Albarracín AL, Ruiz GA, Felice CJ. Discriminability measures and time-frequency features, An application to vibrissal tactile discrimination; Journal of Neuroscience Methods (Impact Factor: 1.959. 5-Year Impact Factor: 2.413. Imprint: ELSEVIER: ISSN: 0165-0270).

Cortés JA, Soto C, **Pizá AG**, Albarracín AL, Farfán FD, Felice CJ and Fernandez E. Time-Frequency analysis of neuronal populations with instantaneous resolution based on Noise-Assisted Multivariate Empirical Mode Decomposition; Journal of Neuroscience Methods (Impact Factor: 2.025. 5-Year Impact Factor: 2.245. Imprint: ELSEVIER: ISSN: 0165-0270); Año: 2015.

**Pizá AG**, Farfán FD, Albarracín AL, Lucianna FA, Soletta JH, Felice CJ. A Simplified Empirical Modeling of Electrophysiological Activity in a Bundle of Myelinated Nerve Fibers; IEEE Latin American Transactions; Vol. 14, No. 7, July 2016.

Lucianna, FA, Albarracín AL, **Pizá AG**, Farfán FD, Felice CJ. Functional specificity of rat vibrissal primary afferents. Physiological Reports; Lugar: Hoboken; Año: 2016 vol. 4.

Soletta JH; Farfán FD; Albarracín AL; **Pizá AG**; Lucianna FA; Felice CJ. Identification of functionally interconnected neurons using factor analysis. Advances in Neuroscience; Lugar: London; Año: 2016 vol. 2016.

## Artículos en congresos

**Pizá AG**, Soto Sánchez C, Albarracín AL, Farfán FD, Fernández E. Respuesta en Frecuencia del Complejo Seno-Folicular y Sintonía con las Características Mecánicas de la Vibrisa. XX Congreso Argentino de Bioingeniería y X Jornadas de Ingeniería Clínica 2017, Ciudad de Córdoba, Argentina.

Soletta JH, **Pizá AG**, Farfán FD, Albarracín AL, Lucianna FA, Soria JC. Modelo de Codificación Neural en Nervio óptico. XX Congreso Argentino de Bioingeniería y X Jornadas de Ingeniería Clínica 2017, Ciudad de Córdoba, Argentina.

**Pizá AG**, Albarracín AL, Farfán FD. The rat vibrissa as a mechanical sensor: Frequency response analysis of the vibrissal-follicle-nerve system. 2nd FALAN Congress 2016, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Pizá AG**, Farfán FD, Albarracín AL, Lucianna FA, Soletta JH, Felice CJ. A Simplified Empirical Modeling of Electrophysiological Activity in a Bundle of Myelinated Nerve Fibers. 2nd FALAN Congress 2016, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Soletta JH, Farfán FD, Albarracín AL, **Pizá AG**, Lucianna FA, Soria JC, Felice CJ. Identification of functional interconnected neurons. 2nd FALAN Congress 2016, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Albarracín AL, **Pizá AG**, Soletta JH, Lucianna FA, Soria JC, Farfán FD, Felice CJ. Nonlinear dynamic analysis of afferent discharges from vibrissal nerve based on noise-assisted multivariate empirical mode decomposition. 2nd FALAN Congress 2016, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Teruya TY, Albarracín AL, **Pizá AG**, Lucianna FA, Pizzi Fincatti LA, Farfán FD, Felice CJ. Surface electromyographic recordings applied in small animals. An approach for movement disorders quantification. XXX Annual Meeting and SAN-ISN Small Conference and Course. Año 2015, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

Albarracín AL, Farfán FD, **Pizá AG**, LuciannaFA, Soletta JH, Ruiz GA, Felice CJ. Mathematical modeling of the electromechanic processes that underlie the vibrissal system mechanotransduction: A study over the passive perception of tactile information. XXX Annual Meeting and SAN-ISN Small Conference and Course. Año 2015, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

**Pizá AG**, Farfán FD, Albarracín AL, Ruiz GA, Felice CJ. Discriminability measures and time–frequency features: An application to vibrissal tactile discrimination. XXIX Congreso de la

Sociedad Argentina de Investigación en Neurociencias and SAN-ISON Small Conference. Año 2014, Huerta Grande, Córdoba, Argentina.

**Pizá AG**, Farfán FD, Albarracín AL, Felice CJ. Time-Frequency analysis for patterns detection of neural code on multifiber recordings. XXVIII Congreso de la Sociedad Argentina de Investigación en Neurociencias & Reunión Satélite “Bases Neurales de la Conducta: Neuroetología y Neurobiología de la Memoria en el Cono Sur”. Año 2013, Huerta Grande, Córdoba, Argentina.

## Resumen

Este trabajo de tesis está basado en un importante know-how de procedimientos electrofisiológicos para el estudio del sistema vibrisal de la rata, los cuales incluyen estudios de conducción nerviosa para comprender los mecanismos fisiológicos del sistema y estudios conductuales. Estos estudios fueron dirigidos a una de las capacidades sensoriales más sobresalientes de la rata: la capacidad de discriminar objetos de diferentes texturas. Se pusieron en evidencia estrategias conductuales que permitirían a los roedores mejorar la percepción de la información táctil y la existencia de patrones temporales en los aferentes primarios relacionados a la rugosidad de las superficies palpadas.

Estos hallazgos electrofisiológicos condujeron, naturalmente, a preguntas tales como: ¿qué característica física de la superficie de rozamiento está siendo codificada por el sistema vibrisal en determinadas condiciones?, ¿Cómo se transmite esa información? y ¿todas las vibrisas transmiten de igual forma la información?

Para comenzar a responder estas preguntas, fue necesario abordar el estudio de las características morfológicas relevantes de las superficies de rozamiento, desarrollar técnicas de procesamiento de la información de las señales electrofisiológicas, modelar el sistema y estudiar posibles diferencias funcionales entre las vibrisas. Así quedaron planteados los objetivos de la tesis.

En el desarrollo de este trabajo de tesis se propuso una herramienta estadística, basada en la teoría de la información, que nos permitió cuantificar la información táctil presente en la actividad eléctrica de las fibras nerviosas que inervan las vibrisas; se modeló matemáticamente el comportamiento eléctrico del nervio vibrisal lo que permitió interpretar mejor el significado/motivo por el cual los potenciales evocados del registro se presentan con diferentes formas, amplitud y duración; se realizaron registros electrofisiológicos en la innervación de varias vibrisas en forma simultánea cuando estas eran estimuladas con superficies de diferente rugosidad para revelar y caracterizar los códigos neuronales involucrados en la integración sensorial. Además, se hizo un análisis de respuesta en frecuencia de varias vibrisas que demostró qué, aunque todos los senos foliculares son anatómicamente similares, funcionalmente son muy diferentes. Cada folículo está preparado para tener mayor sensibilidad para un estímulo de frecuencia específico, que a su vez está en sintonía con su vibrisa, cuya frecuencia de resonancia depende exclusivamente de sus características físicas.

Por último, considerando los parámetros generales del proceso de transducción determinados en el transcurso de la tesis tales como linealidad, sensibilidad y capacidad de adaptación a diferentes modalidades del estímulo, se plantearon los criterios para una futura implementación en sistemas tecnológicos multisensoriales biomiméticos lo cual representa el mayor aporte de la tesis al conocimiento científico y tecnológico.

## Abreviaturas Utilizadas

CSF: Complejo Seno-Folicular

S1: Corteza somato sensorial primaria

IO: Infraorbitario

NVP: Nervio Vibrisal Profundo

NVS: Nervio Vibrisal Superficial

FDH: Histograma de Distribución de Frecuencias

HWL: Ventana tipo Hamming

FFT: Transformada rápida de Fourier

DB: Distancia de Bhattacharyya

D: Distancia estándar multivariada

LDF: Factor de discriminación de Linacre

CAP: Potencial de acción compuesto

SFAP: Potencial de acción de fibra única

LFP: Potencial de campo locales

RMS: Raíz cuadrática media

AM: Amplitud media

PAP: Pico a pico

DECC: Distancia entre cruces por cero

PMa: Pico máximo

PMi: Pico mínimo

Ra: Rugosidad promedio

Rq: La raíz cuadrada media de la rugosidad

Rp: Pico máximo del perfil

Rv: Profundidad del valle

Rt: Máxima altura del perfil

Rz: Altura máxima promedio

RSm: Distancia media de irregularidades del perfil



# Índice

|                                                                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Publicaciones que fundamentan esta tesis.....                                                                                            | 4  |
| Artículos en revistas.....                                                                                                               | 4  |
| Artículos en congresos .....                                                                                                             | 5  |
| Resumen.....                                                                                                                             | 7  |
| Capítulo 1: Introducción.....                                                                                                            | 17 |
| Organización de la tesis.....                                                                                                            | 19 |
| Capítulo 2: Sistema vibrisal de la rata.....                                                                                             | 21 |
| 2.1 Pelos táctiles, bigotes o vibrisas.....                                                                                              | 23 |
| 2.2 Complejo seno folicular .....                                                                                                        | 24 |
| Capítulo 3: Medidas de discriminación táctil y características tiempo-frecuencia. Una aplicación en discriminación táctil vibrisal ..... | 27 |
| 3.1 Introducción .....                                                                                                                   | 27 |
| 3.2 Implementación de análisis para diferenciación de señales electrofisiológicas .....                                                  | 28 |
| 3.2.1 Procedimientos .....                                                                                                               | 28 |
| 3.2.2 Registros de actividad eléctrica de la vibrisa .....                                                                               | 29 |
| 3.2.3 Superficies de barrido.....                                                                                                        | 29 |
| 3.2.4 Estadísticas y procesamiento digital.....                                                                                          | 30 |
| 3.3 Registros de actividad aferente .....                                                                                                | 37 |
| 3.4 Discriminación táctil .....                                                                                                          | 41 |
| 3.4.1 Discriminación táctil vibrisal .....                                                                                               | 43 |
| 3.4.2 Limitaciones en mediciones de discriminabilidad .....                                                                              | 44 |
| 3.5 Conclusiones parciales .....                                                                                                         | 45 |
| Capítulo 4: Modelización empírica simplificada de la actividad electrofisiológica en un haz de fibras mielínicas .....                   | 46 |
| 4.1 Introducción .....                                                                                                                   | 46 |
| 4.2 Modelo eléctrico propuesto.....                                                                                                      | 47 |
| 4.2.1 Simulaciones .....                                                                                                                 | 48 |
| 4.2.2 Validación experimental .....                                                                                                      | 51 |
| 4.3 Resultados .....                                                                                                                     | 52 |
| 4.4 Discusiones .....                                                                                                                    | 54 |
| 4.5 Conclusiones parciales .....                                                                                                         | 57 |
| Capítulo 5: Repuesta en frecuencia del complejo seno-folicular y sintonía con las características mecánicas de la vibrisa.....           | 58 |
| 5.1 Introducción .....                                                                                                                   | 58 |
| 5.2 Protocolo experimental y sustento teórico .....                                                                                      | 59 |

|                                                                                                                                           |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.2.1 Métodos experimentales.....                                                                                                         | 59  |
| 5.2.2 Procesamiento de las señales.....                                                                                                   | 61  |
| 5.2.3 Mediciones teóricas.....                                                                                                            | 61  |
| 5.3 Resultados .....                                                                                                                      | 63  |
| 5.3.1 Resultados experimentales .....                                                                                                     | 63  |
| 5.3.2 Resultados teóricos.....                                                                                                            | 65  |
| 5.4 Discusiones .....                                                                                                                     | 66  |
| 5.5 Conclusiones parciales .....                                                                                                          | 68  |
| Capítulo 6: Integración sensorial de la información táctil percibida por el sistema vibril de la<br>rata para discriminar rugosidad. .... | 69  |
| 6.1 Introducción .....                                                                                                                    | 69  |
| 6.2 Protocolos de experimentación y análisis .....                                                                                        | 70  |
| 6.2.1 Protocolo experimental .....                                                                                                        | 70  |
| 6.2.2 Procesamiento digital de la señal .....                                                                                             | 72  |
| 6.3 Resultados .....                                                                                                                      | 74  |
| 6.3.1 Parámetros superficiales.....                                                                                                       | 74  |
| 6.3.2 Indicadores experimentales .....                                                                                                    | 75  |
| 6.3.3 Correlación entre los parámetros superficiales y los indicadores obtenidos .....                                                    | 77  |
| 6.4 Discusiones .....                                                                                                                     | 78  |
| 6.5 Conclusiones parciales .....                                                                                                          | 80  |
| Capítulo 7: Implementación práctica de los sistemas sensoriales de la rata. ....                                                          | 81  |
| 7.1 Perfilómetros .....                                                                                                                   | 81  |
| 7.2 Campos de aplicación: Industria y salud.....                                                                                          | 82  |
| 7.3 Tecnologías inspiradas en el sistema sensorial de la rata.....                                                                        | 82  |
| 7.3.1 Implementaciones tecnológicas actuales .....                                                                                        | 83  |
| 7.3.2 Innovación tecnológica .....                                                                                                        | 84  |
| 7.3.3 Ventajas y desventajas .....                                                                                                        | 86  |
| 7.4 Conclusiones parciales .....                                                                                                          | 87  |
| Capítulo 8: Conclusiones finales.....                                                                                                     | 88  |
| Capítulo 9: Perspectivas futuras .....                                                                                                    | 90  |
| Referencias .....                                                                                                                         | 91  |
| Apéndice A: Medición de superficies rugosas .....                                                                                         | 102 |
| A.1 Caracterización de Superficies .....                                                                                                  | 102 |
| A.1.1 Definición formal de las características físicas de una superficie .....                                                            | 102 |
| A.1.2 Componentes de la superficie real.....                                                                                              | 103 |
| A.1.3 Definiciones relacionadas a mediciones de textura por métodos perfilométricos...                                                    | 104 |

|                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----|
| A.1.4 Definiciones de Parámetros de Superficie obtenidos por Perfilometría..... | 107 |
| A.2 Medición de superficies rugosas .....                                       | 111 |
| A.3 Resultados .....                                                            | 112 |

## Índice de Figuras

**Figura 2.1:** Representación de la disposición espacial de las vibrisa en el hocico de la rata Wistar, nervios vibrisales y nervio infraorbitario.

**Figura 2.2:** A) Representación interna de la estructura de una vibrisa de rata. Imagen adaptada de Lucianna 2016b; B) Distintos animales con sistema vibrisal en el hocico. Arriba a la izquierda, rata; abajo a la izquierda, gato; arriba a la derecha, nutria y; abajo a la izquierda, león marino.

**Figura 2.3:** Representación esquemática del complejo seno folicular. Imagen adaptada de Rice et al. 1993.

**Figura 3.1:** Protocolo experimental y estímulos. (A) Muestra como el nervio facial debe ser estimulado para producir el movimiento artificial de la vibrisa, y la metodología usada para obtener los registros de actividad eléctrica del nervio vibrisal profundo (adaptado de Albarracín et al. 2006). (B) Fotografías de las superficies utilizadas en este trabajo.

**Figura 3.2:** Características Tiempo-frecuencia de los espectrogramas de registros aferentes. (A) Se obtuvo cincuenta espectrogramas de los cincuenta registros aferentes para cada situación experimental. (B) De cada espectrograma, se obtuvo los componentes de máxima energía en el rango de 10 a 1000 Hz a lo largo del tiempo. (C) Para cada  $\Delta t$  (200 muestras = 5 ms), se determinaron los diagramas de frecuencias (o histogramas). (D) Para cada  $\Delta t$ , se determinó la distribución de probabilidad conjunta.

**Figura 3.3:** Porcentaje de superposición entre dos distribuciones normales. (A) Dos distribuciones con la misma media y con  $\sigma_1 < \sigma_2$ . Los puntos de intersección entre  $f_1$  y  $f_2$  son  $x_1$  y  $x_2$ . (B) Las medias y las desviaciones estándar son diferentes ( $\mu_1 < \mu_2$ ). En ambas figuras, la región sombreada representa el área de superposición entre ambas distribuciones ( $A_{overlap}$ ).

**Figura 3.4:** Porcentaje de una distribución normal superpuesta a otra ( $p\%$ ). Z es la distancia entre medias  $|\mu_2 - \mu_1|/\sigma_1$ , y W es la relación entre las desviaciones estándar  $\sigma_2/\sigma_1$ .

**Figura 3.5:** Descargas aferentes. (A) Registros de desplazamiento y de la actividad aferente de la vibrisa Gamma durante un registro de control. Los registros de desplazamiento fueron realizados con un sensor foto resistivo construido a medida. En el registro de actividad aferente se pueden identificar cuatro fases temporales: 1. un artefacto de estímulo; 2. un artefacto causado por conducción de volumen del EMG; 3. las fases de protracción y retracción y; 4. fase de reposo de la vibrisa, necesaria para lograr una frecuencia de barrido de 10 Hz. (B) Cinco registros de actividad aferente obtenidos en las situaciones: barrido al aire (control); barrido en madera; barrido en metal; barrido en acrílico y; barrido en lija (P1000). Todos los registros corresponden al caso de resistencia al desplazamiento 1. (C) Ídem a B, para la situación experimental con resistencia al desplazamiento 2. (D) Ídem a B, para la situación experimental con resistencia al desplazamiento 4.

**Figura 3.6:** Comparación de pares de situaciones a diferentes niveles de resistencia al deslizamiento. (A) Media y desviación estándar de las frecuencias de máxima energía a lo largo del tiempo obtenidas desde los espectrogramas de las situaciones experimentales para una resistencia al deslizamiento 1. (B) Ídem A para una resistencia al deslizamiento 2. (C) Ídem A para una resistencia al deslizamiento 4.

**Figura 3.7:** Medidas de discriminabilidad. (A) Media y desviación estándar de los componentes de máxima energía a lo largo del tiempo obtenidos de los espectrogramas de 2 situaciones experimentales a nivel de resistencia al deslizamiento 4 (barrido vibrisal sobre superficies de madera y acrílico, líneas azul y rojo respectivamente). (B) Medidas de discriminabilidad dadas por medidas de información (I), factor de discriminabilidad de Linacre (LDF), distancia de Bhattacharyya (DB) y distancia estándar univariada (D). (C) Factores de discriminabilidad normalizados. Todas las medidas de discriminabilidad fueron normalizadas respecto a sus medias y desviación estándar en la fase de descanso.

**Figura 3.8:** Medidas de discriminabilidad normalizadas para comparaciones de a pares de situaciones de barrido a diferentes niveles de resistencia al deslizamiento. (A) Medidas de discriminabilidad con resistencia al deslizamiento 1. (B) Ídem A con resistencia al deslizamiento 2. (C) Ídem A con resistencia al deslizamiento 4.

**Figura 4.1:** Modelo simplificado de la actividad aferente multifibra. (A) Modelización del SFAP registrado a través de un electrodo de registro, e. La atenuación del impulso nervioso  $V_m$ , depende de la distancia entre el  $i$ -th nodo y el electrodo de registro. (B) Factor de atenuación en función de la distancia al electrodo de registro. El origen,  $x=0$ , es considerado como el punto de partida, en el cual se desencadena el impulso nervioso,  $V_m$ . (C) Consideraciones esquemáticas para la modelización de un CAP en un haz de fibras mielínicas. La disposición espacial de fibras tiene una distribución uniforme en toda el área transversal del haz.

**Figura 4.2:** Situaciones experimentales simuladas. (A) Esquema de disposición general de los electrodos  $e_1$ ,  $e_2$ , respecto a la geometría del haz. Los impulsos nerviosos, se generan en la posición  $x=0$  (por ej. debido a una estimulación supramaximal), y se propagan a lo largo de las fibras a velocidades de conducción específicas. Las fibras son distribuidas uniformemente en toda el área transversal del haz. El histograma superior muestra la distribución de distancias entre cada fibra y el electrodo de registro. Los diámetros de las fibras son asignados aleatoriamente y tienen una distribución específica (histograma inferior). (B) Variación de la distancia inter-electrodo. (C) Variación de la posición longitudinal de los electrodos de registro. (D) Variación de la apertura longitudinal de  $W_j$ . En este esquema solo se muestra el factor de ponderación perteneciente a la fibra en contacto con el electrodo  $e_1(+)$  ( $df_j=0$ ). (E) Variación de la duración temporal de  $V_m$ . (F) Variación de la conductividad transversal del intersticio (variación de  $\alpha$ ).

**Figura 4.3:** Validación experimental. (A) Diagrama esquemático del protocolo experimental usado para registrar los CAPs en el nervio infraorbitario. (B) Consideraciones teóricas del

modelo: Arriba, histograma de la distribución de diámetros pertenecientes un haz de 5207 fibras mielínicas, abajo, impulso nervioso que se propaga a lo largo de todas las fibras del nervio infraorbitario.

**Figura 4.4:** Simulaciones en el nervio ciático. **(A)** CAPs obtenidos a través de los electrodos de registro (rojo y azul) y CAP diferencial (negro). En gris se observa el impulso nervioso que viaja a lo largo de cada una de las fibras del nervio. Las amplitudes de los CAPs son relativas a la amplitud de  $V_m$ . Las características morfológicas del nervio simulado fueron: diámetro del haz  $1500\mu m$ , 10 nodos,  $d_n=2000\mu m$ , posiciones de  $e_1$  y  $e_2$ , 10000 y  $20000\mu m$ , respectivamente. En todos los casos 10 simulaciones fueron realizadas. **(B)** Variación de la distancia inter-electrodo. La posición del electrodo  $e_1$  no varía y es  $10000\mu m$ . **(C)** CAPs diferenciales obtenidos desde los electrodos colocados a diferentes distancias. **(D)** CAPs diferenciales obtenidos para diferentes aperturas longitudinales de  $W_j$ . Las aperturas longitudinales son consideradas tal que abarcan la actividad de 10, 6 y 2 nodos. **(E)** CAPs diferenciales para  $V_m$  de diferentes duraciones. **(F)** CAPs diferenciales para diferentes valores  $\alpha$ .

**Figura 4.5:** Simulaciones en el nervio infraorbitario y registros experimentales. **(A)** CAPs diferenciales obtenidos para fibras con diferentes distancias entre nodos. Tres simulaciones fueron realizadas para cada caso. Las amplitudes de los CAPs son relativas al impulso nervioso ( $V_m$ ). Las especificaciones comunes de estas simulaciones fueron: diámetro del haz  $1265\mu m$ , 10 nodos,  $d_n$ =variable, posiciones de  $e_1$  y  $e_2$ , 12000 y  $16000\mu m$ , respectivamente. **(B)** 40 registros CAPs diferenciales obtenidos experimentalmente (azul) y 3 CAPs simulados (líneas de trazo negro). El impulso nervioso coincide temporalmente con el artefacto de estímulo en los registros experimentales.

**Figura 5.1:** Esquema del set experimental utilizado para realizar los estímulos mecánicos con barrido de frecuencia.

**Figura 5.2:** **(A)** Registro de la actividad nerviosa en el nervio vibril aferente correspondiente a la vibril D3 para estímulos de 30 Hz, 60 Hz, 90 Hz y 120 Hz. **(B)** LFP superpuestos y divididos en tres grupos, obtenidos en el registro de 110 Hz con desplazamiento.

**Figura 5.3:** Guion rojo: media de cada repetición del estímulo, con desplazamiento; guion azul: sin desplazamiento; línea roja: curva de ajuste polinomial para los estímulos con desplazamiento; línea azul: sin desplazamiento. Tanto las líneas rojas como azules, son solo orientativas y no fueron utilizadas para obtener. **(A)** Valores RMS vs. Frecuencia. **(B)** Tasa de disparo vs. Frecuencia.

**Figura 5.4:** Regresión lineal para frecuencias menores a la máxima. Guion rojo: media de cada repetición del estímulo, con desplazamiento; guion azul: sin desplazamiento; línea roja: curva de ajuste polinomial para los estímulos con desplazamiento; línea azul: sin desplazamiento.

**Figura 5.5:** Diagrama de dispersión y recta de regresión lineal de las frecuencias de resonancia medidas en el CSF vs. La frecuencia de resonancia mecánica calculada. En verde, datos obtenidos con el modelo de Hartmann y en naranja, datos obtenidos del modelo de Neimark.

**Figura 6.1:** Esquema experimental completo para determinar la existencia de integración sensorial en la discriminación de rugosidades.

**Figura 6.2:** Esquema del set experimental utilizado. Los rodillos de estímulos se pueden intercambiar sin mover el estimulador, permitiendo así realizar exactamente el mismo estímulo con todas las lijas.

**Figura 6.3:** Esquema de construcción de la respuesta reajustada en el tiempo a eventos de 1 ms. En azul se presentan los potenciales de campo con sus respectivas amplitudes, en rojo la señal filtrada a ser analizada. Los puntos verdes representan los picos detectados y los puntos violetas representan los valles detectados.

**Figura 6.4:** Parámetros medidos con rugosímetro Hommel Tester T1000 en las 9 lijas estímulo.

**Figura 6.5:** Señal reconstruida (línea gris) desde los eventos discretos detectados en los registros electrofisiológicos (línea verde). En azul los picos detectados, en rojo los valles detectados.

**Figura 6.6:** Indicadores estimados desde los registros de la vibrisa E4 para los estímulos P600 a P2500.

**Figura 6.7:** Indicador DECC estimado desde los registros de la vibrisa D3 para los estímulos P220 a P1000.

**Figura 6.8:** Diagramas de dispersión de parámetros medidos vs indicadores calculados a partir de los registros electrofisiológicos. **A)** Parámetros vs indicadores correspondientes a la vibrisa E4. **B)** Parámetros vs indicadores correspondientes a la vibrisa D3.

**Figura 7.1:** Perfilómetros comerciales INTERCOVAMEX KLA Tecnor. A) Perfilómetro de contacto D-100; B) Perfilómetro óptico (sin contacto) MicroXAM-.

**Figura 7.2:** Robot biomimético desarrollado por el Laboratorio de Robótica de la Universidad de Bristol. A la izquierda: vibrisa artificial aislada, montada en su correspondiente soporte con sensores. A la derecha, plataforma biomimética con un arreglo de vibrisas artificiales montado. Imagen adaptada de (Pearson et al., 2011).

**Figura A.1:** Diagrama esquemático de las características de superficie.

**Figura A.2:** Perfil medido versus perfil nominal.

**Figura A.3:** Perfil a dos diferentes relaciones de aspecto.

**Figura A.4:** Ejemplo de perfiles nominales.

**Figura A.5:** Filtrado de un perfil de superficie.

**Figura A.6:** Picos y valles del perfil.

**Figura A.7:** Ilustración del cálculo de la rugosidad promedio  $R_a$ .

**Figura A.8:** Parámetros  $R_t$ ,  $R_p$  y  $R_v$ .

**Figura A.9:** Perfil de superficie conteniendo dos longitudes, 11 y 12. También se muestran los parámetros  $R_{pi}$  y  $R_{ti}$ .

**Figura A.10:** Parámetros  $R_t$  y  $R_{max}$ .

**Figura A.11:** Altura de la ondulación,  $W_t$ .

**Figura A.12:** Distancia media de las irregularidades del perfil,  $R_{Sm}$ .

**Figura A.13:** Nivel de conteo de picos, usado para calcular la densidad de picos.

**Figura A.14:** Parámetros de rugosidad para las 9 lijas utilizadas, obtenidos bajo norma.



## Capítulo 1: Introducción

Los roedores, así como muchos mamíferos se caracterizan por la presencia de vibrisas, bigotes o pelos táctiles ubicados a ambos lados del hocico (Ahl, 1986). La disposición de estos, particularmente en la rata, consiste en cinco líneas horizontales (filas A-E) y una línea vertical ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ ) a ambos lados del hocico del animal (Van der Loos y cols., 1984). Se ha postulado que, debido a su pobre visión, las ratas utilizan el movimiento característico de sus vibrisas o “whisking” para obtener información táctil de su medio ambiente (Vincent, 1912).

Cada vibrisa está asentada en una estructura folicular especializada, el Complejo Seno-Folículo (CSF), lugar en donde los mecanorreceptores transducen estímulos mecánicos aplicados en las vibrisas, en actividad eléctrica (Rice y cols., 1986). Esta información viaja por los nervios vibrisales, provenientes de una rama de la división mandibular del nervio trigémino (nervio infraorbitario), hacia la corteza somatosensorial primaria (S1) (Dörfl, 1982). El sistema muscular encargado del movimiento de las vibrisas está íntimamente asociado con los folículos de las vibrisas, y recibe inervación de las ramas bucal y mandibular marginal (división superior) del nervio motor facial (VII par craneal) (Dörfl, 1985).

El sistema sensorial de las vibrisas de la rata ha sido objeto de extensas investigaciones en las últimas décadas, tanto a nivel neuronal como conductual. Se ha demostrado que a través del movimiento “activo” de sus bigotes, las ratas son capaces de discriminar la forma de pequeños objetos, el tamaño de la apertura de una ventana, la ubicación precisa de objetos (Brecht y cols., 1997; Krupa y cols., 2001) y discriminar objetos de diferentes texturas (Albarracín y cols., 2006).

La biomimética (imitar lo biológico) ha servido a la ingeniería como fuente de inspiración para el desarrollo de nuevas tecnologías. En particular, el sentido del tacto en primates y roedores ha permitido idear sensores tecnológicos capaces de proporcionar información del medio ambiente cercano en forma inmediata, tales como textura, forma o identidad de un objeto. Los estudios anatómicos y estructurales de las huellas dactilares y la fisiología de los mecanorreceptores de la piel han dado origen a diversos sensores biomiméticos (Mukaibo y cols., 2005; Calogero Maria Oddo y cols., 2009; C. M. Oddo y cols., 2009; Scheibert y cols., 2009). Cabe destacar que los estudios acerca de la percepción táctil en humanos han demostrado una capacidad de discriminación de texturas finas de alrededor de los 100  $\mu\text{m}$  (Bensmala y Hollins, 2003). Por otro lado, las investigaciones acerca de la discriminación táctil en el sistema vibrisal de la rata han demostrado que una vibrisa (de aprox. 30 vibrisas disponibles) podría discriminar superficies con rugosidades del orden de las micras (Albarracín y cols., 2006; Farfán y cols., 2007, 2011, 2013). Esto demuestra la sorprendente capacidad que tienen las ratas para discriminar texturas.

En este contexto, la biomimética de los procesos neuronales de la codificación sensorial podría ser implementada en sistemas tecnológicos multisensoriales con el fin de optimizar la transferencia de información.

## Organización de la tesis

Esta tesis representa un aporte importante a la fisiología sensorial del sistema vibrisal de la rata en cuanto a que, por medio de nuevas metodologías experimentales e innovadores métodos de procesamiento digital de señales biológicas, se estudió y evaluó el comportamiento de nuevos patrones temporales en la señal aferente en respuesta a propiedades específicas de estimulación táctil. Se presentan, además, nuevos modelos que simulan la actividad evocada durante un barrido de las vibrisas y que podrían emplearse para el diseño de sensores táctiles tecnológicos.

La organización estructural de la presente tesis es la siguiente:

El Capítulo 2 hace una revisión completa del estado del arte del sistema vibrisal de la rata con un enfoque mayormente biológico.

En el Capítulo 3 se implementaron herramientas para evaluar la medida de discriminabilidad en el sistema vibrisal, aportando una nueva solución a una cuestión fundamental a la que se enfrenta un neurocientífico como es la de determinar si un grupo de estímulos específicos aplicados a un sistema biológico produce respuestas específicas y diferenciables.

En el Capítulo 4 se propone un modelo empírico simplificado que es capaz de simular la actividad eléctrica evocada en un nervio en distintas condiciones experimentales. Esta aproximación incluye conceptos físicos y químicos sobre la generación y propagación de potenciales de acción en fibras mielínicas, conducción en volumen y propiedades bioeléctricas, usando parámetros cuantitativos simples.

En el Capítulo 5 se presentan estudios del sistema vibrisal en el que se asocia la respuesta evocada por los mecanorreceptores de cada complejo seno-folicular con las propiedades mecánicas de su correspondiente vibrisa, con el fin de determinar los rangos de trabajo de los folículos y la especificidad de los mismos. Estos estudios representan un importante aporte sobre los mecanismos de transducción de información táctil del sistema vibrisal. La teoría más aceptada hasta el momento sobre estos mecanismos – teoría de los slip-sticks, propone que las vibrisas resuenan transitoriamente durante eventos discretos, de alta velocidad y de alta aceleración, y que ocurren de manera prominente durante el barrido sobre las superficies. Este capítulo presenta evidencias de que cada CSF es especialmente sensible a una determinada frecuencia y evoca mayor actividad cuando se produce un evento de deslizamiento sobre una superficie.

En el Capítulo 6 se estudia la integración sensorial de la información táctil percibida por el sistema vibrisal de la rata para discriminar rugosidad. Veremos aquí cómo la aplicación de un mismo estímulo en todas las vibrisas, produce una respuesta diferente y complementaria de cada una de ellas.

En el Capítulo 7 se proponen lineamientos para la implementación práctica del sistema vibrisal de la rata en sensores tecnológicos.

En el Capítulo 8 se desarrollan discusiones y conclusiones finales de la tesis y, finalmente, en el Capítulo 9 se mencionan las perspectivas futuras.

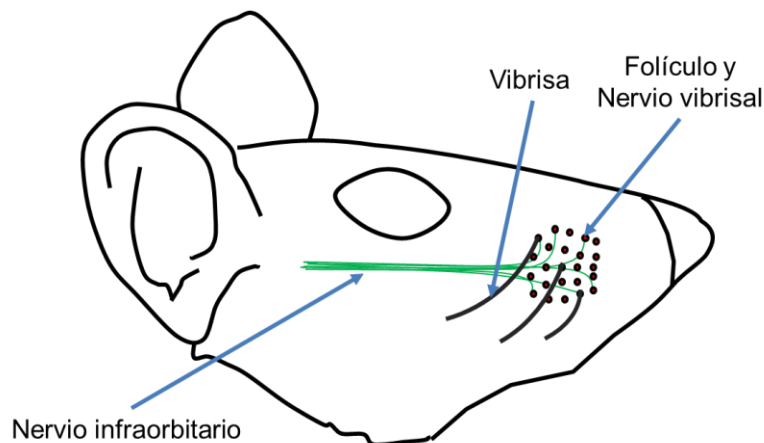
## Capítulo 2: Sistema vibrisal de la rata

Las vibrisas, bigotes o pelos táctiles son una de las características faciales más notables de muchos mamíferos. El término vibrisa viene del latín “vibro” que significa vibrar, y hace referencia a la extraordinaria regularidad con que éstas se mueven, sobre todo en algunos roedores (Ahl, 1986). Se encuentran vibrisas en numerosas ubicaciones y en gran variedad de mamíferos placentarios y marsupiales (Lyne, 1959; Pocock, 1914). La extraordinaria variedad y arreglos en que aparecen las vibrisas sugiere que éstas son muy importantes en la vida de muchos animales y estarían involucradas en diferentes comportamientos.

Algunas especies, como ratas y ratones y otros roedores pequeños, mueven las vibrisas continuamente en un patrón repetitivo sobre las superficies cercanas a su nariz. Otras especies de ratas como *Sigmodon*, solo las mueven cuando cambian la posición de su cuerpo. En algunas especies de mamíferos las vibrisas son prácticamente inmóviles (ballenas, mono Rhesus, cerdos), mientras que en pinnípedos (focas, morsas y león marino), sus vibrisas son muy móviles.

Las primeras descripciones sobre la importancia de las vibrisas en la conducta de la rata fueron documentas por Vincent, en el año 1912. En este trabajo, sin duda uno de los más citados, Vincent realiza un análisis exhaustivo del empleo de las vibrisas en diferentes tareas conductuales y concluye que las vibrisas serían órganos táctiles delicados que funcionarían en el equilibrio, la locomoción y la discriminación de superficies en distinta forma, e infiere que la gran sensibilidad de estos órganos en los roedores, debida a la gran inervación y la fina movilidad, podrían estar compensando la visión excesivamente pobre de estos animales. La importancia de las vibrisas como sistema sensorial en la rata se refleja en su enorme representación cortical: alrededor del 30% de la corteza somatosensorial primaria de la rata (Killackey y Dawson, 1989; Woolsey, 1988).

Los primeros estudios anatómicos sobre la representación cortical de las vibrisas y su estructura especializada –los barriles- (Lorente de Nó R, 1923; Van der Loos y Woolsey, 1973; Woolsey y Van der Loos, 1970), dieron inicio a estudios anatómicos y fisiológicos de toda la vía sensorial de este sistema. En la rata y el ratón, los folículos se encuentran ordenados en una estructura facial especializada conocida como la almohadilla mistacial (“mystacial pad”) (Dörfl, 1982). La disposición de estas, particularmente en la rata, consiste en cinco líneas horizontales (filas A-E) y una línea vertical ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ ) a ambos lados del hocico del animal (figura 2.1). Este patrón de distribución de las vibrisas está determinado genéticamente para cada especie (Van der Loos y cols., 1984).



**Figura 2.1:** Representación de la disposición espacial de las vibrisa en el hocico de la rata Wistar, nervios vibrisales y nervio infraorbitario.

Cada vibrisa está asentada en una estructura folicular especializada, el Complejo Seno-Folículo (CSF), lugar en donde los mecanorreceptores transducen estímulos mecánicos aplicados en las vibrisas, en actividad eléctrica (Rice y cols., 1986). Esta información viaja por los nervios vibrisales, provenientes de una rama de la división mandibular del V par craneal o nervio trigémino (nervio infraorbitario), hacia la corteza somatosensorial primaria (S1) (Dörfl, 1982). Además, cuenta con un sistema muscular encargado del movimiento de las vibrisas que está íntimamente asociado con los folículos vibrisales y recibe inervación de las ramas bucal y mandibular marginal (división superior) del nervio motor facial (VII par craneal) (Dörfl, 1985).

A nivel superior, las vibrisas se encuentran representadas individualmente en la corteza somatosensorial (S1) por una estructura descrita por primera vez por Lorente de Nó R, (1923). Posteriormente, Van der Loos and Woolsey, (1973) denominaron “barriles” a estas estructuras y demostraron que se necesita una periferia intacta para su formación. El tamaño de los barriles sería mayor para las vibrisas más grandes y caudales, y existiría una relación aproximadamente lineal entre el número de células de un barril (1000-2600) y el número de fibras mielínicas del nervio vibrisal (70-160) (Lee and Woolsey, 1975). A partir de estos descubrimientos se originó una avalancha de estudios sobre plasticidad nerviosa, producidos por diversos tipos de lesiones al Sistema Nervioso Periférico (Bennett y cols., 1964; Harris y Woolsey, 1981; Jeanmonod y cols., 1981; Kaas y cols., 1983).

El sistema sensorial de las vibrisas de la rata ha sido objeto de extensas investigaciones en las últimas décadas, no solo a nivel neuronal. Estudios conductuales han demostrado que a través del movimiento “activo” de sus bigotes, las ratas son capaces de discriminar la forma de pequeños objetos, el tamaño de la apertura de una ventana, la ubicación precisa de objetos (Brecht y cols., 1997; Krupa y cols., 2001) y discriminar objetos de diferentes texturas (Albarracín y cols., 2006; Farfán y cols., 2013).

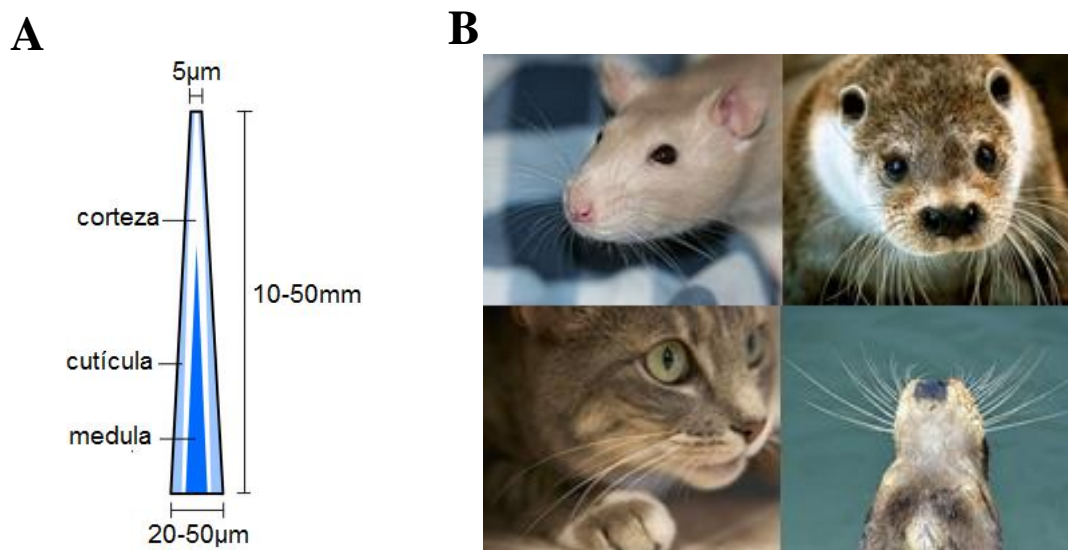
## 2.1 Pelos táctiles, bigotes o vibrisas

Como mencionamos más arriba, las vibrisas son un tipo de pelos rígidos especializados que poseen algunos animales (especialmente los mamíferos, a modo de bigotes – figura 2.2B) como elemento sensorial táctil. Si bien se hallan en diferentes partes del cuerpo, las vibrisas faciales son las más estudiadas.

En los animales las vibrisas tienen una raíz muy sensible que les permite, en muchos casos, detectar, por ejemplo, corrientes de aire (Yu y cols., 2016b). Al entrar en contacto con los objetos del entorno, las vibrisas ayudan a percibir las distancias de los obstáculos en plena oscuridad. En el caso de los gatos, tienen unas terminaciones nerviosas que son estimuladas al más mínimo movimiento del bigote y suministran información acerca de los alrededores inmediatos del gato. La nutria tiene un hocico ancho poblado de largas vibrisas que le permiten captar las vibraciones producidas por sus presas al moverse en aguas turbias.

Entre los animales que poseen vibrisas destacan los felinos, perros, focas, delfines, conejos, ratas, musarañas, manatíes y aves en general.

Particularmente, es de interés en esta tesis, la vibrisa de la rata. Anatómicamente la forma del bigote es similar a un cono truncado lineal con una punta cónica y una sección transversal circular con una médula hueca cerca la base (Carl y cols., 2012; Quist y cols., 2011). En ratas adultas, la longitud típica varía aproximadamente de 10 a 50 mm (Haidarliu y Ahissar, 2001) y depende de la ubicación en la almohadilla mystacial; los más cortos están localizados en la parte rostral del hocico y los más largos caudalmente. Los diámetros oscilan entre 20 y 50  $\mu\text{m}$  en la base del bigote y aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  en la punta (Pearson y cols., 2007) (figura 2.2A). Además, tiene una curvatura intrínseca que se ajusta a una función cuadrática (Knutsen y cols., 2008).



**Figura 2.2:** A) Representación interna de la estructura de una vibrisa de rata. Imagen adaptada de Lucianna y cols., 2016b; B) Distintos animales con sistema vibrisal en el hocico. Arriba a la izquierda, rata; abajo a la izquierda, gato; arriba a la derecha, nutria y; abajo a la izquierda, león marino.

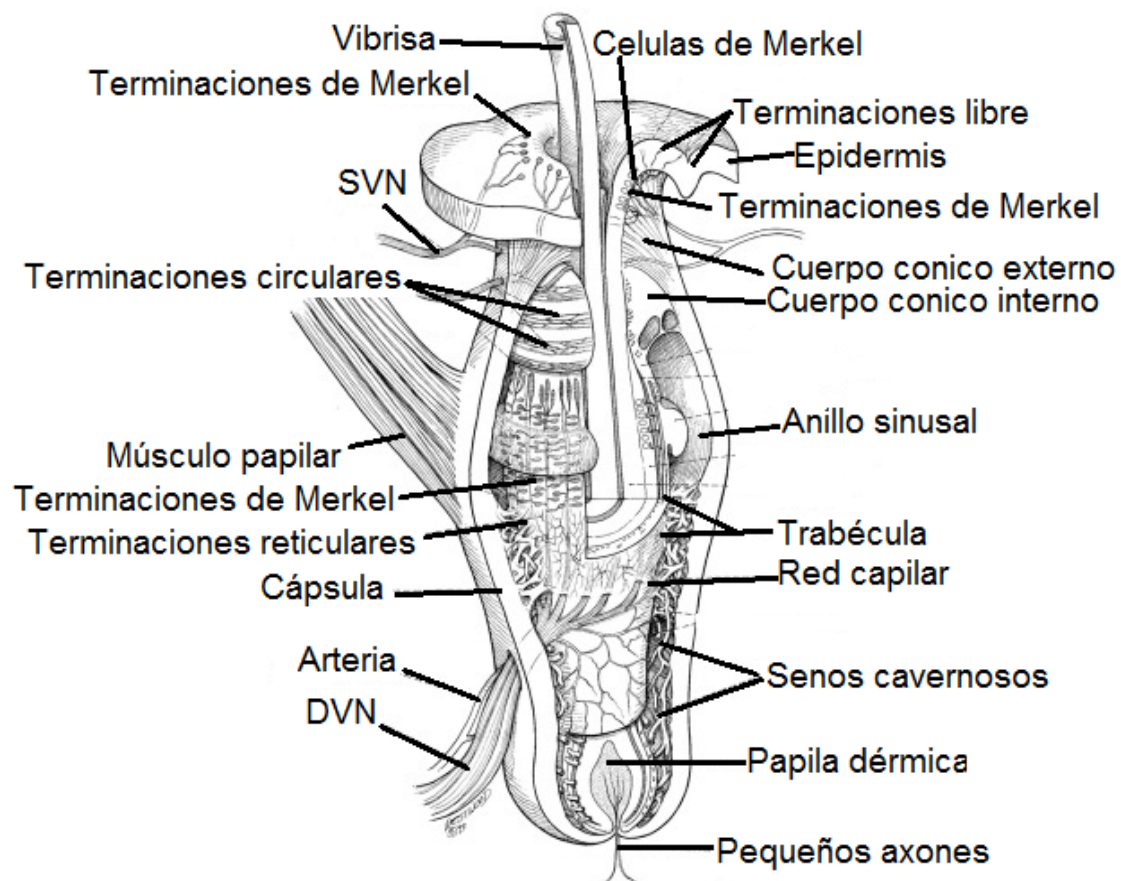
Entre el 50 y el 70% del bigote se encuentra en un solo plano y la curvatura fuera del plano aumenta hacia la punta pero, la curva fuera del plano es relativamente pequeña en comparación con la típica longitud de un bigote (Towal y cols., 2011). La vibrisa tiene tres capas: (1) interna, la médula, que es en su mayoría hueca (Carl y cols., 2012); (2) medio, la corteza; y (3) externo, la cutícula (figura 2.2A). La médula se estrecha desde la base hasta la punta y desaparece en la mitad distal de la vibrisa; la cutícula disminuye en grosor de la base hacia el tercio distal, y es constante cerca de la punta (Quist y cols., 2011). La cutícula consiste en escamas planas con el extremo libre apuntando en la dirección distal. Las escamas se distribuyen de forma irregular, patrón que se repite en todas las partes del bigote. Sin embargo, el tamaño de las escamas varía en diferentes partes de la vibrisa (Voges y cols., 2012).

El bigote tiene una estructura no homogénea que produce diferentes niveles de elasticidad en diferentes secciones, como se refleja en el módulo de Young. En un análisis longitudinal del bigote, el módulo promedio es de aproximadamente 4 GPa en la sección de base y aproximadamente 3 GPa en la punta (Quist y cols., 2011). Radialmente, la cutícula, la corteza y la médula tienen en promedio 3.6 GPa, 4.8 GPa y 4 GPa respectivamente, siendo la cutícula la más variable (Adineh y cols., 2015).

## 2.2 Complejo seno folicular

Cada vibrisa se encuentra asentada sobre una compleja estructura denominada Complejo Seno-Folículo (CSF), cuyo nombre hace referencia a una importante asociación de un seno sanguíneo en el folículo desde donde emerge cada vibrisa (figura 2.3). Cada folículo está ricamente inervado por dos nervios sensoriales cuyas fibras suman un número aproximado de 250 fibras. Se ha calculado que un tercio de estas fibras son amielínicas (Klein y cols., 1988) y predominan las fibras sensoriales sobre las autonómicas (Waite y Li, 1993). Estas fibras aferentes provienen del nervio infraorbitario (IO), rama mayor de la división maxilar del Nervio Trigémino o V par craneal.





**Figura 2.3:** Representación esquemática del complejo seno folicular. Imagen adaptada de Rice y cols. 1993.

Como ya se dijo, los pelos táctiles o vibrisas se originan en un folículo muy especializado, el CSF, que difiere de los folículos del pelo común en varios aspectos:

- Su tamaño es 5 ó 6 veces más grande que el del pelo común, Contiene 1 o más senos sanguíneos y varias capas de tejido conectivo. Esta estructura permitiría la vibración del pelo en la profundidad del folículo con las consecuentes implicancias a nivel mecánico y fisiológico.
- Se encuentra rodeado de músculo esquelético bajo control voluntario; el pelo común está rodeado de musculatura lisa bajo control autónomo.
- Posee una importante inervación, los nervios vibrisales profundo y superficial que suministran aproximadamente entre 200 y 300 fibras en total.
- Contiene varios tipos de receptores: células de Merkel, terminaciones lanceoladas, terminaciones nerviosas libres y terminaciones reticuladas.
- Cada folículo posee una representación específica a diferentes niveles del SNC.

El folículo se encuentra rodeado por tejido adiposo en casi toda su longitud, y por una banda de tejido conectivo que atraviesa la parte inferior de todos los folículos de una misma fila. Esta banda adquiere mayor condensación entre las caras rostral y caudal de dos folículos

adyacentes (de la misma fila) y se fijan a la parte más profunda del músculo vibrisal del folículo posterior y a la cara caudal del folículo anterior. La banda terminaría, rostralmente, en el tejido conectivo laxo de la parte anterior del labio, entre el músculo nasal y los folículos más rostrales.

El CSF se divide en dos partes: una mitad más profunda formada por una red de trabéculas, el seno cavernoso, y una mitad superior – completamente abierta -, el seno anular. A este nivel se encuentra un collar de tejido conectivo denso – el ringwulst - (Rice y cols., 1986). La inervación de cada CSF es suministrada por el nervio vibrisal profundo (NVP), que penetra en la cápsula a la altura del seno cavernoso, y por el nervio vibrisal superficial (NVS) que converge en el cuello del CSF. El movimiento de la vibrisa o el tallo, que emerge a la superficie desde el folículo, ejercería internamente cierta presión tanto en los senos sanguíneos como en las capas de tejido que lo rodean produciendo la activación de los diferentes mecanorreceptores distribuidos a lo largo de la estructura del folículo.

La complejidad estructural del CSF ha producido una variedad de especulaciones en torno a las implicaciones mecánicas y fisiológicas de la presencia del seno y las vainas que rodean a las vibrisas. Aún se encuentran en el terreno especulativo los posibles mecanismos de transducción que tendrían lugar en el folículo.

## Capítulo 3: Medidas de discriminación táctil y características tiempo-frecuencia. Una aplicación en discriminación táctil vibrisal

### 3.1 Introducción

Uno de los principales objetivos de la neurociencia es entender como las neuronas representan, procesan y manipulan la información (Victor, 2006). El sistema nervioso interpreta lo que está sucediendo en el mundo real a través de respuestas neuronales, identificando un estímulo particular o extrayendo información de un estímulo (Dayan, 2005). La diferenciación de respuestas neurales evocadas por diferentes estímulos es uno de los principales indicadores de la existencia de algún código neural. Entonces, el primer problema que un neurocientífico debe solucionar es determinar si un grupo específico de estímulos aplicados a un sistema biológico, produce respuestas específicas, precisas y diferenciables.

Se sabe, desde hace un tiempo, que las ratas adquieren información sensorial táctil a través del movimiento activo de sus vibrisas y que un código neural se manifiesta a diferentes niveles de su sistema sensorial. (Arabzadeh y cols., 2006; Diamond y cols., 2008; Farfán y cols., 2013). Particularmente, Wolfe y cols., (2008) encontraron que cuando una vibrisa se desliza sobre una superficie rugosa, experimenta cambios en su trayectoria, produciéndose saltos y movimientos irregulares de la misma (conocidos como eventos slip-stick) que forman patrones de eventos slip-stick relacionados a características de la superficie como el tamaño de los granos y la distancia entre ellos. Farfán y cols. (2013), por otra parte, mostraron que es posible identificar eventos electrofisiológicos evocados por eventos mecánicos slip-stick explorando registros de actividad aferente multifibras y que estos permiten discriminar los estímulos a un nivel periférico.

En este capítulo se propone la utilización de una herramienta de procesamiento capaz de discriminar cuantitativamente distintas situaciones experimentales, en base a características tiempo-frecuencia que, a menudo, se utilizan como una primera exploración de análisis (Victor, 2006). El análisis tiempo-frecuencia (o espectro-temporal) es un método de exploración general y adecuado para datos neurales (Mitra y Pesaran, 1999). Este análisis es de uso frecuente debido a que la señal neural, especialmente aquellas influenciadas por estímulos externos, son no estacionarias (es decir, sus propiedades estadísticas cambian en el tiempo) y nos permite identificar estadísticamente, estructuras temporales significativamente diferenciables en los trenes de disparos.

Para esto, la señal neural es segmentada en periodos de tiempo lo suficientemente breves como para que cada segmento pueda considerarse estacionario. Entonces, se le aplica un análisis espectral estándar a cada segmento con el cual podemos revelar las características espectrales de

la señal en ese momento. Así, el análisis tiempo-frecuencia nos provee de información específica que estaría relacionada con el código neural de la información sensorial.

Entonces, para realizar mediciones sobre la discriminación en el sistema de las vibrisas, se utilizaron cuatro técnicas: una basada en la teoría de la información, la segunda basada en la estimación de porcentajes de superposición entre distribuciones normales (propuesto por Linacre, 1996) y, la tercera y cuarta, basadas en la distancia de Bhattacharyya y la Distancia Estándar Univariada, ambos indicadores de divergencia entre dos distribuciones (Bhattacharyya, 1943; Flury y Riedwyl, 1986).

La teoría de la información ha sido utilizada previamente para cuantificar la información contenida en las respuestas neurales en el sistema visual (Borst y Theunissen, 1999; Haag y Borst, 1997; Koch y cols., 2004; Passaglia y Troy, 2004). Además, medidas de discriminación de respuestas neurales han sido aplicadas para estimar la escala de tiempo relevante de codificación neuronal (Kretzberg y cols., 2001; Machens y cols., 2001) o para cuantificar la confiabilidad de la respuesta (Chichilnisky y Rieke, 2005; Grewe y cols., 2003).

Las mediciones sobre discriminabilidad propuestas más arriba, se aplicaron a los problemas de discriminación del sistema vibrisal bajo condiciones experimentales específicas. Para esto, se analizó la actividad aferente del nervio vibrisal profundo cuando la vibrisa se desliza sobre diferentes materiales (madera, metal, acrílico y lijas) con diferentes texturas. Al igual que en un trabajo previo de Albarracín y cols. (2006), se consideró el cambio de resistencia al rozamiento sobre la superficie como una manera de mejorar la adquisición de información táctil. Las características tiempo-frecuencia de los registros aferentes fueron obtenidas para cada situación experimental (barrido vibrisal sobre diferentes superficies). Entonces, se realizaron comparaciones de a pares.

## 3.2 Implementación de análisis para diferenciación de señales electrofisiológicas

### 3.2.1 Procedimientos

Para los experimentos se utilizaron cinco ratas Wistar adultas (300 - 350 g). Fueron anestesiadas con Uretano (1,5 g / Kg) y su temperatura fue mantenida a 37° C con una manta de calor servo controlada. La cirugía consistió en la exposición del nervio infraorbitario y de las dos ramas del nervio facial (bucal y mandibular marginal superior) en el lado derecho. La rama motora fue diseccionada y cortada proximalmente para evitar influencias motoras en la vía sensorial. Se instalaron electrodos de estimulación en las porciones distales del nervio para producir la contracción de los músculos masticatorios. Con un microscopio de alta magnificación, se identificó el nervio vibrisal profundo que inerva el folículo vibrisal de la vibrisa Gamma. Se disecó el nervio que también fue cortado proximalmente para evitar la actividad evocada que pueda producirse

desde niveles más altos de la vía sensorial. Para los registros de la descarga nerviosa aferente del nervio seleccionado, se usó un electrodo bipolar (de alambre de plata aislado, 0.2 mm de diámetro). Tanto los electrodos de registro como el nervio, fueron inmersos en un aceite mineral durante todo el registro. Todos estos procedimientos se realizaron de acuerdo a las recomendaciones de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (National Research Council, NRC).

### 3.2.2 Registros de actividad eléctrica de la vibrisa

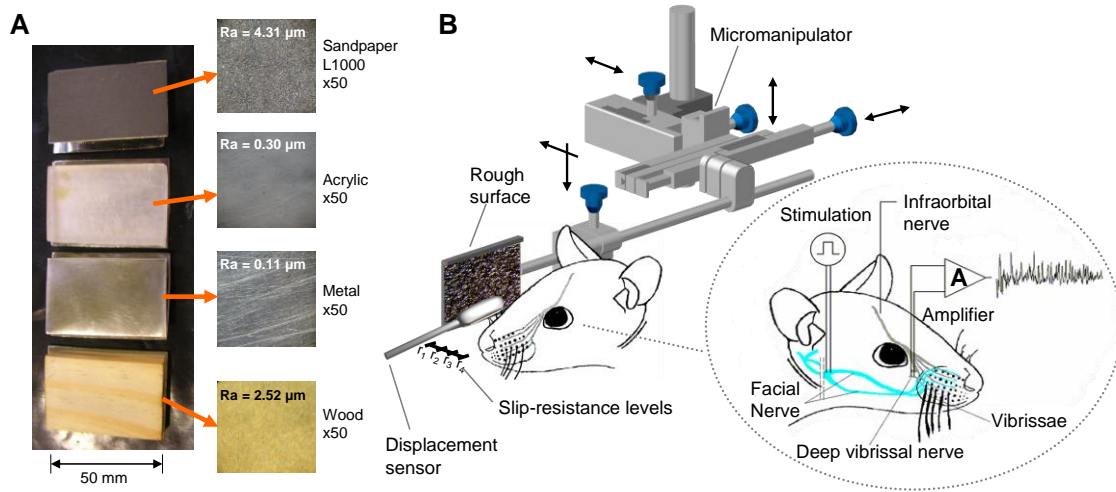
En este trabajo se registró la actividad multifibra del nervio de la vibrisa Gamma mientras la vibrisa se desplazaba sobre superficies de diferentes texturas. El protocolo experimental usado ya ha sido descrito detalladamente por Albarracín y cols. (2006) y Farfán y cols. (2013, 2011). Los procedimientos se describen brevemente a continuación.

Los movimientos en la vibrisa fueron inducidos por estimulación del nervio motor facial (VII), con pulsos cuadrados (30 segundos, 7 voltios supramaximal, 15 Hz) que produjeron barridos vibrisales a su frecuencia natural (en la figura 3.1B se muestra un diagrama del protocolo experimental). La actividad nerviosa fue registrada con un digitalizador (Digidata 1322A, Texas Instruments) a una frecuencia de muestreo ( $F_s$ ) de 20 KHz (y durante una ventana temporal de 100 ms, después de cada inicio de ciclo del movimiento vibrisal). Se realizaron 50 repeticiones del ciclo del movimiento vibrisal para cada superficie y 50 ciclos adicionales donde el registro se realizó con el movimiento vibrisal al aire (control). Cada superficie estímulo fue montada a diferentes distancias de la base de la vibrisa para generar cuatro diferentes niveles de resistencia al deslizamiento. Para el nivel mínimo de resistencia al deslizamiento, la superficie fue ubicada a la máxima distancia, de manera tal que la punta de la vibrisa apenas tuviese contacto con ella durante todo el ciclo del movimiento (resistencia al desplazamiento 1). Para aumentar los niveles de resistencia al desplazamiento, la superficie del estímulo se acercó 3, 6 o 9 mm hacia la base de la vibrisa (resistencia al desplazamiento 2, 3 y 4 respectivamente) (Albarracín y cols., 2006). Por último, los movimientos de la vibrisa Gamma fueron registrados simultáneamente con la actividad nerviosa usando un sensor fotoresistivo hecho a medida (figura 3.1B). La respuesta en frecuencia de dicho sensor tiene un rango de 0-100 Hz, permitiendo la identificación directa de las fases de protracción y retracción del ciclo de movimiento. (Dürig y cols., 2009).

### 3.2.3 Superficies de barrido

Para este trabajo se utilizaron superficies con diferentes texturas: madera, metal, acrílico y lijas al agua P1000 (figura 3.1A). Las superficies de madera, metal y acrílico fueron pulidas usando el mismo tipo de lija al agua P1000 permitiendo obtener superficies con una rugosidad similar para todas las texturas. La textura de una superficie no es medible cuantitativamente y,

por esto, no es posible asignar un “valor de textura” para cada superficie. Sin embargo, es posible medir algunas características intrínsecas o parámetros de la textura. Entonces, se midieron las rugosidades de las superficies usando un Hommel Tester T1000 (HommelWerke, [www.hommel-etamic.de](http://www.hommel-etamic.de)) y se usó el parámetro Ra (desviación aritmética del perfil evaluado) como una estimación. (Estándares Internacionales BS.1134 e ISO 468). En la figura 3.1A se presentan los valores Ra.



**Figura 3.1:** Protocolo experimental y estímulos. (A) Fotografías de las superficies utilizadas en este trabajo. (B) Muestra como el nervio facial debe ser estimulado para producir el movimiento artificial de la vibrisa, y la metodología usada para obtener los registros de actividad eléctrica del nervio vibrisal profundo (adaptado de Albarracín y cols. 2006).

### 3.2.4 Estadísticas y procesamiento digital

#### 3.2.4.1 Espectrograma vía Transformada Rápida de Fourier

Una herramienta de representación tiempo-frecuencia usada comúnmente, es la transformada rápida de Fourier (Qian, 2002), que se define como:

$$\begin{aligned}
 STFT_x(\tau, f) &= \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \cdot \omega(t - \tau) e^{-j2\pi \cdot f \cdot t} df \\
 &= \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \cdot \omega_{t,f}^*(t) \cdot dt
 \end{aligned}
 \tag{3.1}$$

En dónde  $\omega_{t,f}^*(t) = \omega(t - \tau) e^{-j2\pi \cdot f \cdot t}$ . *STFT* analiza la señal  $x(t)$  mediante una breve ventana  $\omega(t) : x(t) \cdot \omega(t - \tau)$ , y luego se realiza una transformación de Fourier en este producto

usando funciones de base exponencial compleja. El cuadrado del módulo de la *STFT* se denomina Espectrograma (Zhan y cols., 2006).

$$SPEC_x(\tau, f) = |STFT_x(\tau, f)|^2 \quad (3.2)$$

Así, el espectrograma de cada registro de actividad multifibra fue calculado utilizando los siguientes parámetros: ventana tipo Hamming (HWL) de 200 muestras de largo, superposición de segmentos del 97.5 % (195 muestras), 200 muestras de largo de la FFT (figura 3.2A). Debido al ventaneo utilizado, el intervalo de los diagramas tiempo-frecuencia se redujeron de 5 a 95 ms y la resolución en frecuencia resultante del espectrograma fue de 100 Hz (tasa de muestreo / HWL)

#### 3.2.4.2 *Componente de frecuencia de máxima energía vs tiempo*

Se seleccionaron los componentes de máxima energía en el rango de frecuencias de 10 a 1000 Hz para cada espectrograma y a lo largo del tiempo. Así, la información del espectrograma, inicialmente de tres dimensiones (frecuencia, amplitud y tiempo), es reducido a una serie temporal (valores de frecuencia de máxima energía vs tiempo). Entonces, cincuenta series de tiempo representan una situación experimental (figura 3.2B).

#### 3.2.4.3 *Medidas de discriminabilidad*

Para medir la discriminabilidad entre todos los pares posibles de situaciones experimentales, se usaron cuatro métodos: Medidas de información usando teoría de la información (Cover y Thomas, 2006; Farfán y cols., 2013; Shannon, 1948), estimación de porcentaje superpuestos (Linacre, 1996), distancia de Bhattacharyya (Bhattacharyya, 1943) y distancia estándar univariada (Flury y Riedwyl, 1986).

##### *a) Medidas de información*

La información que las características tiempo-frecuencia de la actividad aferente contienen acerca del estímulo, pueden ser cuantificadas por la fórmula de información mutua de Shannon (Cover y Thomas, 1991), llamada en lo sucesivo simplemente como "Información":

$$I = \sum P(r) \cdot P(s|r) \log_2 \frac{P(s|r)}{P(s)} \quad (3.3)$$

Donde  $P(s)$  es la probabilidad de presentación del estímulo  $s$ ,  $P(s|r)$  es la probabilidad posterior de  $s$  dado una observación de  $r$ , y  $P(r)$  es la probabilidad de  $r$  incondicional en el estímulo. La información determina la cantidad máxima de conocimiento (límite superior de la información) disponible para un observador que conoce la probabilidad posterior  $P(s|r)$  y usa esta

para leer las señales disponibles en una sola observación de un tren de disparos (Rieke, 1999). Detalles acerca de las estimaciones de la distribución de probabilidades de la ecuación 3.3 se describen en (Farfán et al., 2013).

Aquí, la información fue obtenida para cada par de situaciones experimentales a lo largo del tiempo. En resumen, los valores  $I$  (ecuación 3.3) se obtuvieron como se detalla a continuación:

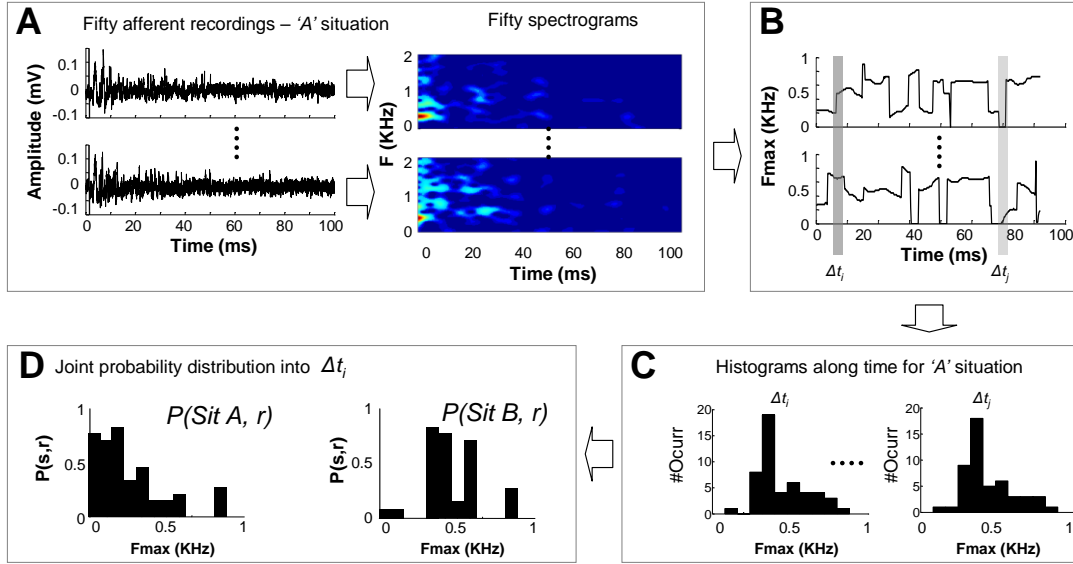
1. Primeramente, se determinaron los diagramas de frecuencia (o histogramas) para cada ventana de tiempo. Para cada situación experimental, se obtuvo el número de ocurrencia  $r$ . La respuesta  $r$  es la componente de máxima energía en el rango de frecuencia desde 10 a 1000 Hz (figura 3.2C).
2. Determinación de la distribución de probabilidad conjunta,  $P(s, r)$  (figura 3.2D).
3. Determinación de las distribuciones de probabilidad de  $P(r)$  y  $P(s)$ . La probabilidad de obtener una respuesta  $r$ , independientemente de si el estímulo  $s$  ocurrió o no, se conoce como probabilidad marginal y puede calcularse sumando las probabilidades conjuntas para una respuesta  $r$  dada.
4. Determinación de la distribución de probabilidad condicional  $P(s/r)$ .
5. Determinación de la cantidad de información  $I$ . Después de obtener todas las distribuciones de probabilidad, es posible obtener la información mutua utilizando la ecuación 3.3.

La probabilidad estímulo-respuesta de la ecuación 3.3 a priori no se conocen y deben estimarse empíricamente a partir de un número limitado,  $N$ , de ensayos experimentales para cada estímulo particular. En este protocolo experimental,  $N$  fue 50. El muestreo limitado de las probabilidades de respuesta puede conducir a un sesgo al alza en la estimación de la información (Golomb y cols., 1997; Optican y cols., 1991; Paninski, 2003; Panzeri y Treves, 1996; Victor, 2000). Se usó una serie de procedimientos de corrección de sesgo (Panzeri y Treves, 1996). Como todos tienen resultados casi idénticos, se presentan solo los resultados basados en el procedimiento de corrección por extrapolación cuadrática. Este procedimiento de corrección de sesgo supone que el sesgo puede aproximarse con precisión como expansiones de segundo orden en  $1/N_{tr}^{tot}$  (donde  $N_{tr}^{tot}$  es el número de ensayos), esto es:

$$bias = \frac{a}{N_{tr}^{tot}} + \frac{b}{(N_{tr}^{tot})^2} \quad (3.4)$$



Donde  $a$  y  $b$  son parámetros libres que dependen de las probabilidades estímulo-respuesta, y se estiman por recalcu de la información desde la fracción de ensayos de la siguiente manera: El conjunto de datos se divide primero en dos particiones aleatorias y las cantidades de información se calculan para cada partición individualmente. El promedio de las dos particiones proporciona una estimación correspondiente a la mitad de los ensayos. Del mismo modo, al



**Figura 3.2:** Características Tiempo-frecuencia de los espectrogramas de registros aferentes. (A) Se obtuvo cincuenta espectrogramas de los cincuenta registros aferentes para cada situación experimental. (B) De cada espectrograma, se obtuvo los componentes de máxima energía en el rango de 10 a 1000 Hz a lo largo del tiempo. (C) Para cada  $\Delta t$  (200 muestras = 5 ms), se determinaron los diagramas de frecuencias (o histogramas). (D) Para cada  $\Delta t$ , se determinó la distribución de probabilidad conjunta.

dividir los datos en cuatro particiones aleatorias, es posible obtener estimaciones correspondientes a un cuarto de los ensayos. Finalmente,  $a$  y  $b$  son extrapolados como parámetros de la función parabólica estimada que pasa a través de la  $N_{tr}^{tot} / 2$  y  $N_{tr}^{tot} / 4$  (Magri y cols. 2009).

#### *b) Porcentaje de superposición entre distribuciones normales (LDF).*

Para estimar la discriminabilidad de dos situaciones experimentales, se midió el porcentaje de superposición entre las distribuciones de las componentes de máxima energía. Se calcularon las series de tiempo de las medias y su desviación estándar (figura 3.2B) usando la teoría de datos agrupados. Para esto, se creó un histograma de distribución de frecuencias (FDH) que podemos ver en la figura 3.2C. Los histogramas se formaron con 10 intervalos con un rango de 100 Hz (de 10 a 1000 Hz con saltos de 100 Hz). Entonces, la media y la desviación estándar se calcularon con la siguiente ecuación:

$$\hat{\mu} = \frac{\sum_{i=1}^M x_i \cdot h_i}{M} \quad (3.5)$$

$$\hat{\sigma} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^M (x_i - \hat{\mu})^2 \cdot h_i}{M - 1}} \quad (3.6)$$

En donde  $\hat{\mu}$  y  $\hat{\sigma}$  son la media y la desviación estándar estimadas,  $M$  es el número de clases (cantidad de intervalos del histograma),  $x_i$  es el valor medio de la  $i$ -ésima clase, y  $h_i$  es el número de elementos de cada intervalo. Por lo tanto, cada situación experimental es representada por una serie de tiempo  $\hat{\mu}(t)$  y con su  $\hat{\sigma}(t)$  correspondiente.

Para comparar las distintas condiciones experimentales, se estimó el porcentaje de superposición a lo largo del tiempo. Este porcentaje se midió con una herramienta propuesta por Linacre (1996). A continuación, se indican los principales pasos del procedimiento:

El porcentaje por el que cada muestra de  $f_2(x)$  se superpone sobre  $f_1(x)$  puede ser estimado calculando el área bajo la distribución  $f_1(x)$  desde  $-\infty$  hasta  $x_1$  más el área bajo la distribución  $f_2(x)$  desde  $x_1$  hasta  $x_2$  más el área bajo  $f_1(x)$  desde  $x_2$  hasta  $\infty$  (figura 3.3). Simbólicamente se escribe:

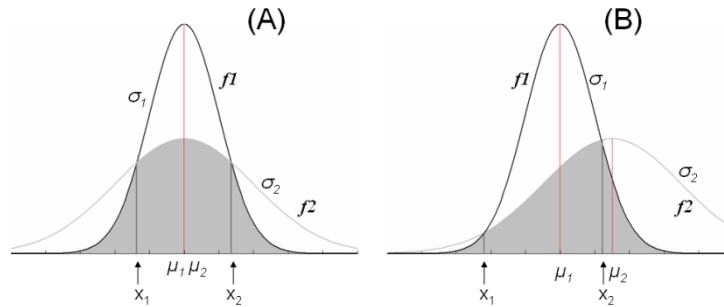
$$A_{overlap} = \int_{-\infty}^{x_1} f_1(x) \cdot dx + \int_{x_1}^{x_2} f_2(x) \cdot dx + \int_{x_2}^{\infty} f_1(x) \cdot dx \quad (3.7)$$

Donde:

$A_{overlap}$ : es el área de superposición de la función  $f_2$  en  $f_1$ .

$f_1(x)$  y  $f_2(x)$  son funciones de distribución normal. Los parámetros de  $f_1$  y  $f_2$  son  $\mu_1$ ,  $\mu_2$ ,  $\sigma_1$  y  $\sigma_2$ , correspondiente a los promedios y desviación estándar.

$x_1$  y  $x_2$  son los puntos de intersección entre  $f_1(x)$  y  $f_2(x)$ .



**Figura 3.3:** Porcentaje de superposición entre dos distribuciones normales. **(A)** Dos distribuciones con la misma media y con  $\sigma_1 < \sigma_2$ . Los puntos de intersección entre  $f_1$  y  $f_2$  son  $x_1$  y  $x_2$ . **(B)**

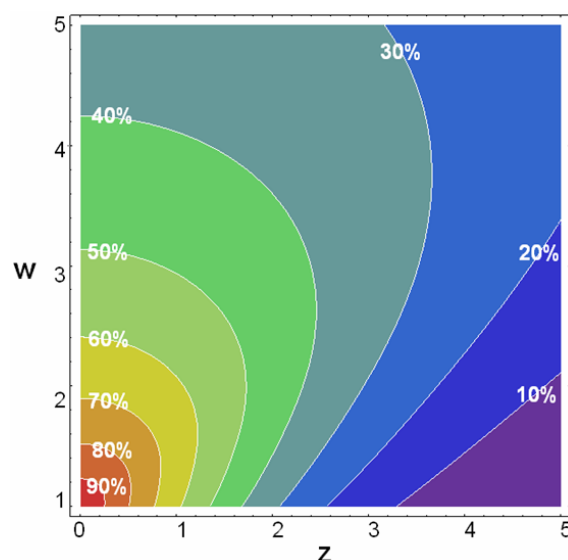
Las medias y las desviaciones estándar son diferentes ( $\mu_1 < \mu_2$ ). En ambas figuras, la región sombreada representa el área de superposición entre ambas distribuciones ( $A_{overlap}$ ).

La figura 3.3 muestra el área de superposición ( $A_{overlap}$ ) obtenida de la ecuación 3.7. Un nomograma que relaciona las medias, variancias y porcentajes de superposición, puede ser construido suponiendo que:

$$\frac{A_{overlap}}{A_{f1}} = K.100 \quad (3.8)$$

Donde  $A_{overlap}$  es el área de superposición y  $A_{f1}$  es el área bajo la distribución  $f_1$ .

Si consideramos  $A_{f1} = \text{constante}$ , entonces podemos reescribir  $A_{overlap}$  como una función de  $|\mu_2 - \mu_1|/\sigma_1$  y  $\sigma_2/\sigma_1$  (Linacre, 1996). La figura 3.4 muestra el nomograma resultante.



**Figura 3.4:** Porcentaje de una distribución normal superpuesta a otra ( $p\%$ ).  $Z$  es la distancia entre medias  $|\mu_2 - \mu_1|/\sigma_1$ , y  $W$  es la relación entre las desviaciones estándar  $\sigma_2/\sigma_1$ .

Finalmente, se puede establecer una relación entre el porcentaje de superposición y las variables  $Z$  y  $W$  ( $f[z, w]=K$ ).

$$\begin{aligned}
p(z, w) = & \frac{1}{2} \left( 1 + \operatorname{Erf} \left[ \frac{\left( -z + \sqrt{w^2(z^2 + 2(-1 + w^2)\log(w))} \right)}{\sqrt{2}(1 - w^2)} \right] \right) + \\
& \frac{1}{2} \operatorname{Erf} \left[ \frac{\left( z \cdot w^2 + \sqrt{w^2(z^2 + 2(-1 + w^2)\log(w))} \right)}{\sqrt{2}(-w - w^3)} \right] + \\
& \frac{1}{2} \operatorname{Erf} \left[ \frac{\left( -z \cdot w^2 + \sqrt{w^2(z^2 + 2(-1 + w^2)\log(w))} \right)}{\sqrt{2}(-w - w^3)} \right] + \\
& \frac{1}{2} \left( 1 + \operatorname{Erf} \left[ \frac{\left( z + \sqrt{w^2(z^2 + 2(-1 + w^2)\log(w))} \right)}{\sqrt{2}(1 - w^2)} \right] \right)
\end{aligned} \tag{3.9}$$

Donde  $\operatorname{Erf}[X]$  es la función de error para cada elemento de  $X$ . La función de error está definida como:

$$\operatorname{Erf}[X] = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x e^{-t^2} .dt \tag{3.10}$$

En resumen, se calcula una distancia absoluta estandarizada entre las medias  $(\mu_A - \mu_B / \sigma_A)$  y la relación de las desviaciones estándar  $(\sigma_B / \sigma_A)$  a cada instante de tiempo. Donde  $\mu_A$  y  $\mu_B$  son los  $F_{max}$  promedios a un tiempo  $t_i$  de las situaciones  $A$  y  $B$ .  $\sigma_A$  y  $\sigma_B$  son las desviaciones estándar de las situaciones  $A$  y  $B$ . Así, este método permite descubrir el porcentaje en el que una distribución se superpone a otra ( $A_{overlap}$ ). Finalmente, la medida de discriminabilidad entre dos situaciones experimentales es:

$$LDF = 1 - A_{overlap} \tag{3.11}$$

Donde  $LDF$  es el factor de discriminabilidad de Linacre.

### c) *Distancia de Bhattacharyya (DB)*

La distancia de Bhattacharyya es una medida de divergencia entre dos distribuciones (Bhattacharyya, 1943). En esta simple formulación, la distancia entre dos clases con distribución aproximadamente normal puede ser calculada usando las medias y las variancias de las dos distribuciones por separado.

$$D_B(p, q) = \frac{1}{4} \ln \left[ \frac{1}{4} \left( \frac{\sigma_p^2}{\sigma_q^2} + \frac{\sigma_q^2}{\sigma_p^2} + 2 \right) \right] + \frac{1}{4} \left[ \frac{(\mu_p - \mu_q)^2}{\sigma_p^2 + \sigma_q^2} \right] \tag{3.12}$$

Donde,  $D_B(p, q)$  es la distancia de Bhattacharyya entre las distribuciones  $p$  y  $q$ ,  $\sigma_p$  es la variancia de la distribución  $p$ -th,  $\mu_p$  es la media de la distribución  $p$ -th, y  $p, q$  son dos distribuciones diferentes.

Aquí,  $D_B(sitA, SitB)$  se calculó a lo largo del tiempo.  $\mu$  y  $\sigma$  se obtuvieron usando la ecuación 3.5 y 3.6 respectivamente.

#### d) *Distancia estándar univariada (D)*

Uno de los problemas estadísticos básicos es la comparación de dos muestras de media  $\mu_p$  y  $\sigma_p$ . Para esto, se presenta una formulación simple de (Flury and Riedwyl, 1986) que compara dos medias en términos de la distancia estándar.

$$D = \frac{|\mu_p - \mu_q|}{s} \quad (3.13)$$

$$s^2 = \frac{s_p^2 + s_q^2}{N - 2} \quad (3.14)$$

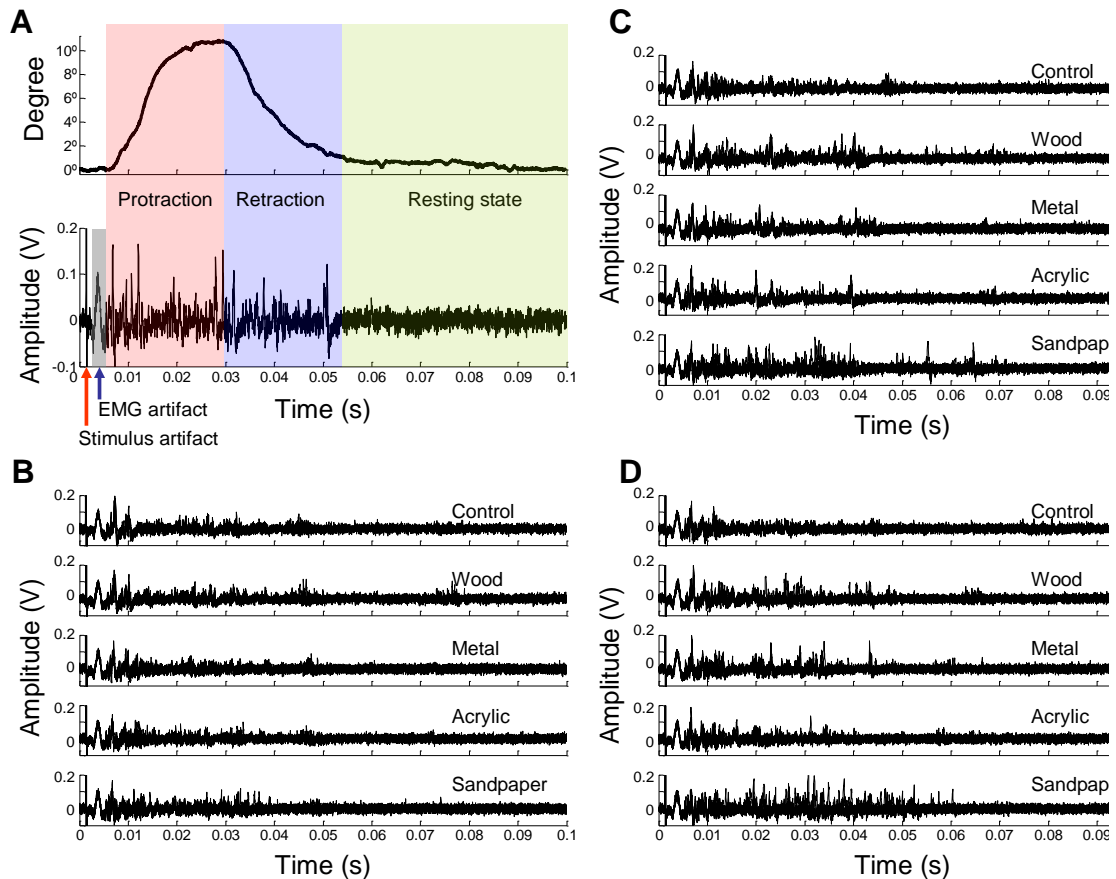
Donde  $s^2$  es la variancia agrupada de ambas muestras (ecuación 3.14). Esta distancia puede interpretarse como la diferencia entre medias en unidades de desviación estándar. En este trabajo, se calculó la distancia  $D$  a lo largo del tiempo.  $\mu$  y  $\sigma$  fueron obtenidas usando las ecuaciones 3.5 y 3.6 respectivamente.

### 3.3 Registros de actividad aferente

Los registros de actividad aferentes obtenidos en este experimento son el resultado de la actividad eléctrica promedio de 200 axones mielínicos (Albarracín y cols., 2006; Farfán y cols., 2013) donde no todas las fibras tienen los mismos patrones de disparos. En la figura 3.5A se muestran los registros multifibras obtenidos del nervio que inerva la vibrisa Gamma, registrado durante un barrido de control, y su correspondiente desplazamiento vibrisal. El desplazamiento vibrisal y la actividad aferente fueron registrados simultáneamente y con la misma frecuencia de muestreo. A partir del registro del desplazamiento es posible identificar las fases de protracción y de retracción. En la última fase, la vibrisa Gamma vuelve a su posición natural hasta completar un periodo de 100 ms (frecuencia de barrido de 10 Hz). En los registros de actividad aferente se puede observar un artefacto de estímulo a  $t = 2 \text{ ms}$  y otro artefacto generado por la conducción de volumen del EMG a  $t = 4 \text{ ms}$ .

La figura 3.5B muestra 5 registros de actividad aferente en diferentes situaciones de barrido y con resistencia al deslizamiento 1 (definida anteriormente). La amplitud de la descarga aferente no varía significativamente entre el control y la madera o entre metal y acrílico. Sin

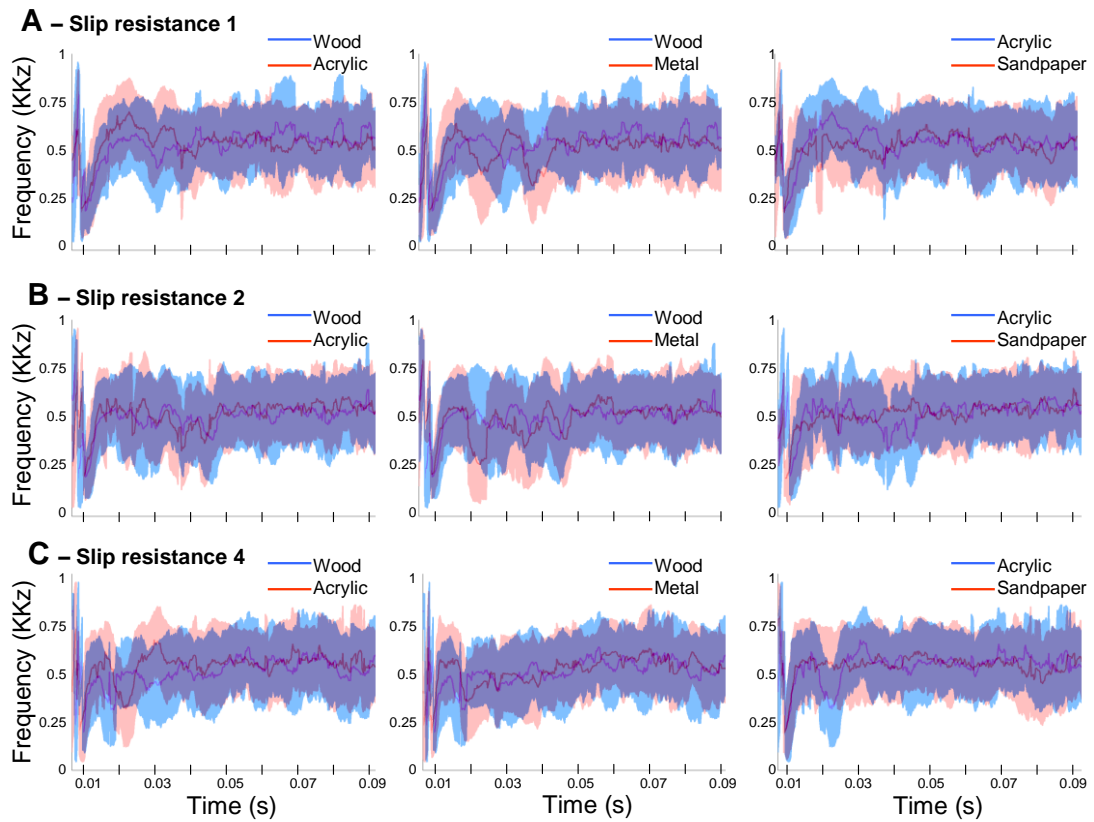
embargo, se observan algunas diferencias cuando la vibrisa es rozada por la lija. Esta particularidad se debe a la alta rugosidad de la lija (4.31 micras) comparada con las demás superficies (acrílico 0.30 micras, metal 0.11 micras y madera 2.52 micras) medidas por Farfán y cols., (2011). Cuando la vibrisa se estimula con resistencia al desplazamiento 2, la amplitud de las descargas aferentes aumenta notablemente (figura 3.5C), mostrando una dependencia con la rugosidad de las superficies.



**Figura 3.5:** Descargas aferentes. **(A)** Registros de desplazamiento y de la actividad aferente de la vibrisa Gamma durante un registro de control. Los registros de desplazamiento se realizaron con un sensor foto resistivo construido a medida. En el registro de actividad aferente se pueden identificar cuatro fases temporales: 1. un artefacto de estímulo; 2. un artefacto causado por conducción de volumen del EMG; 3. las fases de protracción y retracción y; 4. fase de reposo de la vibrisa, necesaria para lograr una frecuencia de barrido de 10 Hz. **(B)** Cinco registros de actividad aferente obtenidos en las situaciones: barrido al aire (control); barrido en madera; barrido en metal; barrido enacrílico y; barrido en lija (P1000). Todos los registros corresponden al caso de resistencia al desplazamiento 1. **(C)** Ídem a B, para la situación experimental con resistencia al desplazamiento 2. **(D)** Ídem a B, para la situación experimental con resistencia al desplazamiento 4.

En consecuencia, se puede observar que cuando la vibrisa es estimulada con madera, se evocan más descargas y de mayor amplitud que cuando se estimula conacrílico. Además, se observa que los barridos sobre lijas evocan descargas de amplitud aún mayor en el nervio aferente. En la figura 3.5D se observa resultados similares cuando se estimula con resistencia al deslizamiento 4.

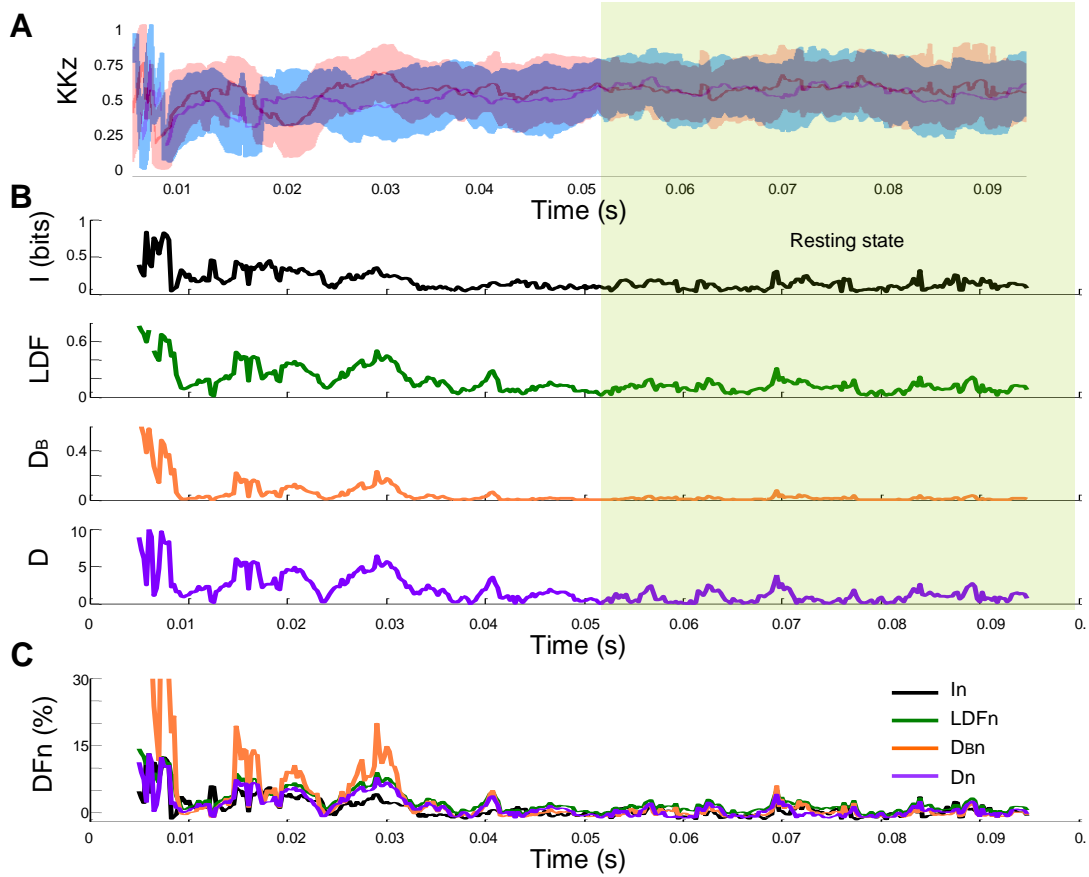
Se obtuvo los espectrogramas de cada registro de actividad aferente y se determinaron los componentes de máxima energía, en el rango de 10 a 1000 Hz, a lo largo del tiempo. Entonces, para cada situación experimental, se obtuvieron cincuenta series de tiempo ( $F_{\max}$  vs tiempo). En la figura 3.6A se observa la media y la desviación estándar de la frecuencia a lo largo del tiempo de dos situaciones diferentes. Una observación cualitativa revela que, tanto en las fases de protracción como de retracción (10-50 ms), existen diferencias entre las  $F_{\max}$  medias para los diferentes niveles de resistencia al deslizamiento. Estas diferencias entre las medias pueden ser estimadas cuantitativamente calculando el grado de superposición entre las superficies sombreadas.



**Figura 3.6:** Comparación de pares de situaciones a diferentes niveles de resistencia al deslizamiento. (A) Media y desviación estándar de las frecuencias de máxima energía a lo largo del tiempo obtenidas desde los espectrogramas de las situaciones experimentales para una resistencia al deslizamiento 1. (B) Ídem A para una resistencia al deslizamiento 2. (C) Ídem A para una resistencia al deslizamiento 4.

La figura 3.7A muestra las medias y desviación estándar de  $F_{\max}$  a lo largo del tiempo correspondiente a barridos sobre madera y acrílico al nivel de resistencia al deslizamiento 4. Las medidas de discriminabilidad entre las situaciones de barrido se presentan en la figura 3.7B. Todas las medidas de discriminabilidad presentan resultados similares. Pueden observarse diferencias cuantitativas entre las distintas situaciones en las fases de protracción y retracción del barrido vibril. Todas las medidas de discriminabilidad proveen valores cuantitativos con diferentes

unidades; por ejemplo, la unidad de  $I$  se representa en bits, y la de LDF en porcentajes). Para comparar las distintas mediciones de discriminabilidad, se normalizaron con sus valores de media y desviación estándar correspondientes de la fase de descanso. De este modo, es posible cuantificar la discriminabilidad entre situaciones de barrido de acuerdo al crecimiento porcentual respecto a su media en la fase de descanso (Factor de discriminabilidad normalizado, DFn).



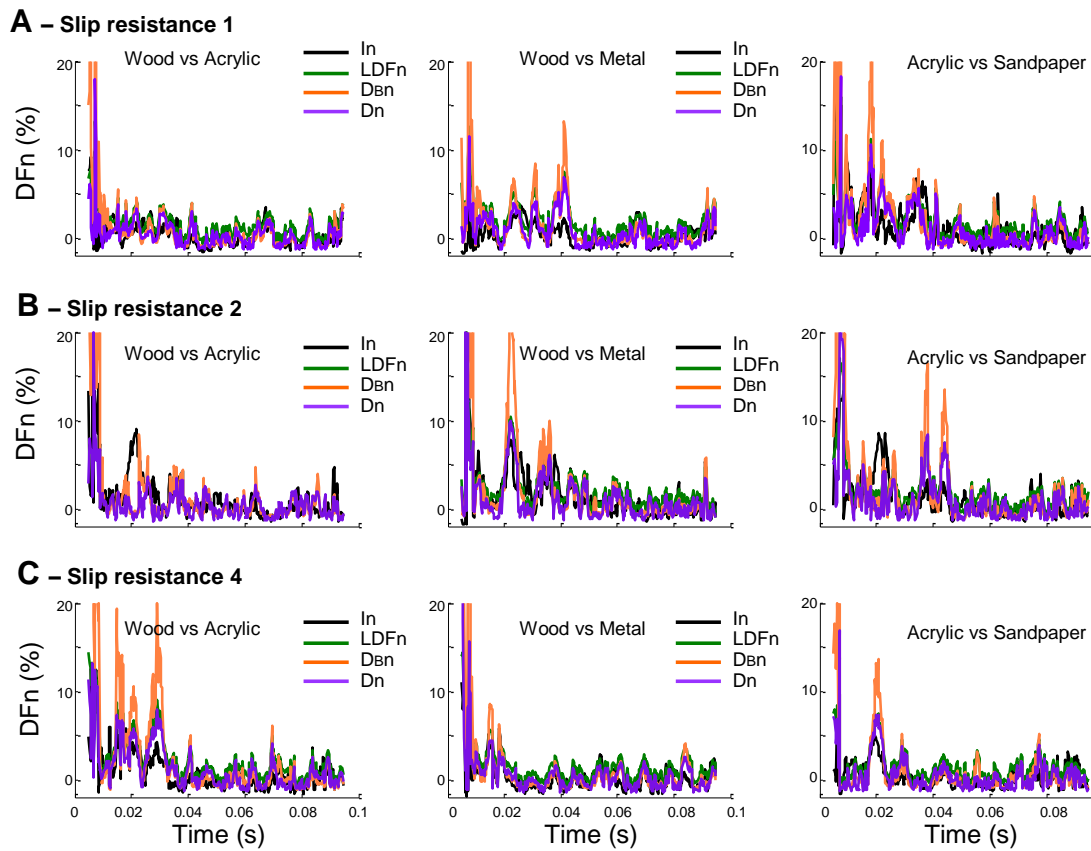
**Figura 3.7:** Medidas de discriminabilidad. (A) Media y desviación estándar de los componentes de máxima energía a lo largo del tiempo obtenidos de los espectrogramas de 2 situaciones experimentales a nivel de resistencia al deslizamiento 4 (barrido vibrisal sobre superficies de madera y acrílico, líneas azul y rojo respectivamente). (B) Medidas de discriminabilidad dadas por medidas de información ( $I$ ), factor de discriminabilidad de Linacre (LDF), distancia de Bhattacharyya ( $D_B$ ) y distancia estándar univariada ( $D$ ). (C) Factores de discriminabilidad normalizados. Todas las medidas de discriminabilidad fueron normalizadas respecto a sus medias y desviación estándar en la fase de descanso.

En la figura 3.7C se muestran las cuatro mediciones de discriminabilidad normalizadas en unidades de porcentaje (incremento porcentual respecto a la discriminabilidad en la fase de descanso). Se observa que la distancia de Bhattacharyya ( $D_{BN}$ ) tiene mayores cambios porcentuales que el resto de las medidas en la fase de proyección (10 a 30 ms).

Las mediciones de discriminabilidad normalizadas para las situaciones de barrido de la figura 3.6, están presentadas en la figura 3.8. La situación de barrido en madera vs acrílico no presenta un aumento significativo en sus mediciones de discriminabilidad para un nivel de



resistencia al deslizamiento 1 (figura 3.8A, izquierda). Por otro lado, las situaciones de barrido en madera vs metal y madera vs lija, presentan un aumento significativo en sus medidas de discriminabilidad, principalmente en la fase de protracción. Cuando se incrementa la resistencia al deslizamiento a un nivel 2, incrementa la discriminabilidad en la situación madera vs acrílico, entre los 18 a 30 ms (figura 3.8B, izquierda). La medida de información normalizada ( $In$ ) refleja esta particularidad. Para el caso de barridos en madera vs metal, se observa un aumento de la discriminabilidad a los 20 ms (figura 3.8B, medio), mientras que en el caso de barrido de madera vs lija presenta un descenso de la discriminabilidad a los 20 ms ( $LDFn$ ,  $DBn$  y  $Dn$ ) y un incremento a los 40 ms ( $DBn$ ).



**Figura 3.8:** Medidas de discriminabilidad normalizadas para comparaciones de a pares de situaciones de barrido a diferentes niveles de resistencia al deslizamiento. (A) Medidas de discriminabilidad con resistencia al deslizamiento 1. (B) Ídem A con resistencia al deslizamiento 2. (C) Ídem A con resistencia al deslizamiento 4.

Con una resistencia al deslizamiento 4, los barridos de la situación madera vs acrílico producen un aumento significativo en sus medidas de discriminabilidad (reflejadas principalmente en los factores  $LDFn$ ,  $DBn$ , y  $Dn$ ) dentro de los 20 a 35 ms (figura 3.8C, izquierda), mientras que la situación madera vs metal no son discriminables (figura 2.8C, medio).

### 3.4 Discriminación táctil

En este capítulo, se propone la utilización de diferentes herramientas de medición de discriminabilidad que permitan evaluar la capacidad de discriminación de texturas del sistema vibrisal. Para ello se utilizaron las características tiempo-frecuencia obtenidas de los registros de actividad del nervio aferente vibrisal. Los resultados revelan la existencia de patrones tiempo-frecuencia que permiten diferenciar las distintas situaciones de barrido a partir de registros multifibras. Todas las mediciones de discriminabilidad indican los intervalos de tiempo donde dos situaciones de barrido tienen alta probabilidad de ser discriminados. Sin embargo, estos indicadores poseen diferente sensibilidad. La sensibilidad se refiere al porcentaje de cambio del indicador respecto a su valor promedio en una fase de referencia (la fase de descanso). En la figura 3.8 se observa que el factor  $D_{BN}$  es más sensible que los demás factores porque los cambios porcentuales son mayores (líneas naranjas). Estas diferencias en la sensibilidad de las medidas de discriminabilidad permiten destacar áreas, o intervalos de tiempo, donde se revelan cambios significativos de las características tiempo-frecuencia. Así, se puede planificar un análisis más comprensivo acerca del código neural involucrado en la codificación de la información táctil.

La menor sensibilidad fue observada en las mediciones de información (figura 3.8 líneas negras). Resultados similares fueron descritos por (Grewe y cols., 2007), quien argumentó que las medidas de información basadas en la teoría de la información se aplican usualmente para evaluar capacidades de codificación de un sistema mientras que, las medidas de detección de señal (basadas en teoría de la información), se utilizan comúnmente para evaluar la capacidad decodificadora del procesamiento de información neuronal. Además, Grewe y cols., (2007) demostraron que la mayor fiabilidad de la respuesta aumenta con la relación señal ruido, lo que conduce a una mayor capacidad de información y, en paralelo, aumenta la discriminabilidad de la respuesta en la tarea de detección de señales. Por lo tanto, todas las medidas de discriminabilidad propuestas aquí pueden emplearse para abordar el problema de la codificación del rendimiento, ya que dependen de manera similar de la calidad de la respuesta.

La teoría de la información mide la significancia estadística de como las respuestas neurales varían con diferentes estímulos (Borst y Theunissen, 1999). Es decir, determina cuanta información acerca del estímulo está contenida en la respuesta neuronal. Si un estímulo A genera una respuesta promedio  $R_A$  y un estímulo B genera  $R_B$ , la información en la respuesta podría ser medida como la diferencia entre  $R_A$  y  $R_B$ . Sin embargo, dos situaciones experimentales con la misma respuesta diferencia ( $R_A - R_B$ ) pueden tener diferente variabilidad en sus respuestas. Entonces la información obtenida es mayor para las situaciones experimentales con menos variabilidad. Si la variabilidad de la respuesta está descrita por la variancia, entonces la información neuronal puede ser descrita por el factor de discriminabilidad de Linacre, distancia de Bhattacharyya o la distancia estándar univariada. Sin embargo, esto es rigurosamente correcto

solo si la distribución de probabilidad de respuesta, dadas condiciones particulares de estímulo (distribución de probabilidad condicional), está completamente especificado con sus medias y variancia, como para distribuciones Gaussianas (Borst y Theunissen, 1999).

El uso de la información como una medida estadística de significancia, es una extensión de este proceso. La teoría de la información permite considerar no sólo la variancia de respuesta, sino las distribuciones de probabilidad condicional exacta. Aquí, se estimaron las probabilidades condicionales de los estímulos (situaciones de barrido) dada la observación de  $r$  (características tiempo-frecuencia),  $P(s/r)$ , y se usó la teoría de la información para calcular una distancia entre dos situaciones experimentales. A pesar de que este método no requiere ninguna condición de distribución Gaussiana, es muy sensible a sobreestimaciones de valores de información debido a un muestreo limitado de las probabilidades de respuesta (Panzeri y Treves, 1996). Se usó un procedimiento de corrección de sesgo para corregir los problemas de sobreestimación. Finalmente, las medidas de información permitieron validar otras medidas de discriminabilidad.

#### 3.4.1 Discriminación táctil vibril

Es sabido que las ratas pueden distinguir superficies de diferentes rugosidades a través de su sistema vibril (Carvell y Simons, 1990, 1995; Guic-Robles y cols., 1989), y que hay patrones de descargas específicos a nivel periférico cuando las ratas deslizan sus vibril sobre superficies rugosas (Albarracín y cols., 2006; Farfán y cols., 2011, 2013). Muchos investigadores propusieron diferentes mecanismos de transducción y codificación neural de la información táctil, sin embargo, uno de los más aceptados es el propuesto por Wolfe y cols. (2008), quien encontró que cuando las vibril se desplazan a lo largo de una textura, su trayectoria se caracteriza por tener un movimiento irregular a saltos: la punta de la vibril tiende a quedarse fija en un lugar (“stick”), antes de doblarse y saltar libre (“slip”), sólo para quedar atascada de nuevo. Un evento slip-stick es un salto en velocidad y aceleración. Así, según esta teoría, un patrón de eventos slip-stick podría estar determinado por características de la superficie de rozamiento, como el tamaño de los granos y la distancia entre ellos (Diamond y cols., 2008; Farfán y cols., 2013). Los receptores foliculares podrían responder a las características más prominentes del movimiento vibril – saltos de gran velocidad sobre los granos de la textura – dando lugar al código neural de textura (Arabzadeh y cols., 2005; Ito, 1985; Shoykhet y cols., 2000).

Farfán y cols. (2013), mostraron que es posible identificar los eventos fisiológicos (descarga multifibra) evocados por eventos mecánicos (rozamiento de una vibril sobre superficies) explorando los registros de la actividad del nervio aferente vibril. Es decir, los receptores foliculares transforman los eventos mecánicos (slip-stick) en actividad eléctrica (spikes o disparos) que viajan a través de múltiples axones (nervio infraorbitario) hacia niveles más altos del sistema sensorial. En este capítulo, se exploró la información tiempo-frecuencia, contenida en las descargas aferentes, que podría estar relacionada con la codificación neural táctil. Trabajos

preliminares revelaron la existencia de características en amplitud y frecuencia en la actividad aferente a través de las cuales es posible discriminar superficies con diferentes texturas (Albarracín y cols., 2006). Las medidas de discriminabilidad aquí propuestas revelan que, las características de frecuencia a lo largo del tiempo podrían estar relacionadas al código neural de la información táctil.

En base a los resultados obtenidos, se podría afirmar que el barrido en madera no puede ser diferenciado del barrido sobre acrílico por medio del análisis de las características tiempo-frecuencia, cuando el nivel de resistencia al deslizamiento es el más bajo (figura 3.8A). Sin embargo, esta misma situación puede ser diferenciada alrededor de los 20 ms cuando se aplica un nivel de resistencia al deslizamiento 2 (figura 3.8B). Esta observación está dada por el incremento del porcentaje de los valores de información (bits) con respecto a la fase de descanso. Los barridos en madera vs acrílico pueden ser discriminados uno del otro en la fase de protracción (de 10 a 30 ms) a un nivel de resistencia al deslizamiento 4, donde se incrementan todas las medidas porcentuales de discriminabilidad propuestas. El factor  $D_{Bn}$  tuvo el incremento porcentual más grande (figura 3.8C). Estos resultados están parcialmente de acuerdo con los obtenidos por Albarracín y cols. (2006). La discriminabilidad entre situaciones experimentales puede deberse a posibles patrones temporales en la descarga aferente (eventos electrofisiológicos) que codifican las características de las texturas de las superficies (Farfán y cols., 2013).

### 3.4.2 Limitaciones de las mediciones de discriminabilidad

Las medidas de información de la ecuación 3.3 puede ser extendida para una situación con muchas condiciones de estímulo  $\{S_A, S_B, S_C, \dots\}$  para medir cómo la distribución de respuestas para cualquier condición de estímulo particular 'x' es diferente a las demás distribuciones condicionales que pueden ser obtenidas. Esto se hace para comparar la probabilidad condicional  $P(s_x/r)$  con la probabilidad incondicional  $P(r)$  (probabilidad de la respuesta bajo cualquier estímulo) (Borst y Theunissen, 1999). Las medidas de discriminabilidad propuestas en las ecuaciones 11.3, 12.3 y 13.3 no pueden ser expandidas a más de dos situaciones experimentales. Esta importante limitación puede ser superada usando otros métodos de medida de distancias entre situaciones experimentales, tal como la distancia de Mahalanobis (Mahalanobis, 1936) entre otros.

Por otro lado, las medidas de discriminabilidad que involucran promedios y variancias en sus formulaciones, requieren que la probabilidad de respuesta tenga una distribución normal. Sin embargo, el teorema central del límite establece que, dadas ciertas condiciones, la media aritmética de un número suficientemente alto de muestras de variables aleatorias independientes, estará normalmente distribuido (Rice, 1995). En otras palabras, las mediciones de discriminabilidad aquí propuestas solo pueden ser usadas en protocolos experimentales donde se hayan extraído una cantidad significativa de muestras.

### 3.5 Conclusiones parciales

En este capítulo se implementaron cuatro medidas de discriminabilidad para investigar la discriminación de texturas por medio de las características tiempo-frecuencia de los registros aferentes del nervio vibril. Las medidas de discriminabilidad permitieron determinar los intervalos de tiempo donde dos situaciones experimentales tienen una mayor probabilidad de ser diferenciadas una de la otra. Simultáneamente, permitió cuantificar el grado de discriminabilidad de acuerdo a los cambios porcentuales respecto a su estado estacionario (estado de descanso). Se observaron altos porcentajes de discriminabilidad en la fase de protracción, y en menor grado, en la fase de retracción. También fue posible cuantificar el efecto de los cambios en la resistencia al desplazamiento, en la capacidad de discriminación de diferentes situaciones de barrido. Se lograron altos porcentajes de discriminabilidad a niveles bajos de resistencia al deslizamiento para algunos pares específicos, mientras que otros fueron mejor discriminados a un alto nivel de resistencia al deslizamiento. Esto sugiere que la resistencia al deslizamiento sería una posible estrategia de comportamiento para la discriminación de superficies rugosas.

Finalmente, se demostró que la sensibilidad de tres medidas de discriminabilidad ( $LDFn$ ,  $D_{Bn}$  y  $Dn$ ) es diferente a la medida de información (con teoría de la información). Esto revela una mayor capacidad para resaltar los cambios porcentuales en la comparación de a pares.

## Capítulo 4: Modelización empírica simplificada de la conducción nerviosa en un haz de fibras mielínicas

### 4.1 Introducción

La caracterización electrofisiológica in-vitro, o in-vivo, de fibras mielínicas periféricas es un procedimiento estándar que permite determinar aspectos funcionales del nervio, tales como, velocidad de conducción, distribución de fibras mielínicas/no-mielínicas, y características refractarias temporales de las fibras nerviosas (Ruch, 1973). Consiste, por lo tanto, en analizar la morfología temporal del potencial de acción compuesto (CAP, por sus siglas en inglés), registrado en un haz de fibras nerviosas (Buchthal y Rosenfalck, 1966). La modelización matemática del CAP ha permitido revelar aspectos funcionales específicos, los cuales muchas veces resultan dificultosos de obtener experimentalmente, tales como la contribución electrofisiológica de diferentes haces de fibras mielínicas (Schoonhoven y cols., 1986b).

El CAP se modela comúnmente como una superposición lineal de potenciales de acción de fibra única (SFAPs, por sus siglas en inglés). Algunas aproximaciones, frecuentemente referidas como modelos físicos, determinan analíticamente el SFAP usando la teoría de conducción por volumen y descripciones de la actividad eléctrica intracelular (Barker y cols., 1979; Schoonhoven et al., 1986a), mientras que otras, referidas como modelos empíricos, establecen la forma de onda del SFAP y se asumen ciertas condiciones de propagación sobre el haz de fibras (Andreasen y Struijk, 2002; Bogatov y cols., 2014; Caddy y cols., 1981; Contento y cols., 1983). En todos los casos, las formulaciones requeridas tienen implementaciones matemáticamente complejas las cuales dificultan una adecuada parametrización del modelo de CAP.

En este capítulo se propone un modelo simplificado de la actividad electrofisiológica de un haz de fibras mielínicas, el cual permite predecir la forma de onda del CAP registrado en diferentes condiciones experimentales. Nuestra aproximación empírica permite simular condiciones experimentales tales como: adquisición del CAP en forma monopolar / diferencial, variación de forma de onda del CAP en función de la posición y distancia entre-electrodos de registro, cambios del CAP en función de la morfología intrínseca del impulso nervioso, contribución electrofisiológica de fibras anatómicamente diferentes y el efecto de los cambios de conductividad eléctrica del intersticio. El modelo reúne conocimientos físico-químicos de la generación y propagación de potenciales en fibras mielínicas, conducción por volumen, propiedades eléctricas del medio, y son implementados a través de parámetros cualitativos simples.

La validación fue realizada a través del análisis cualitativo de simulaciones de CAPs obtenidos en el nervio ciático de sapo bajo diferentes condiciones experimentales, y a través de registros experimentales de CAPs registrados en el nervio infraorbitario de rata. Los resultados revelan un adecuado ajuste del modelo a registros CAP obtenidos experimentalmente. La intuitiva parametrización, utilizada por nuestra aproximación, facilita su implementación e interpretación de resultados, del mismo modo que le proporciona gran versatilidad y robustez.

## 4.2 Modelo eléctrico propuesto

Un impulso nervioso,  $V_m$ , es capaz de propagarse a lo largo de un axón miélinico a una velocidad de conducción,  $v$ , la cual es directamente proporcional al diámetro de la fibra (Ruch, 1973). Tal propagación es realizada de un modo saltatorio, es decir, que el impulso nervioso se propaga desde un nodo a otro sin sufrir alteraciones de amplitud (Goldman y Albus, 1968). Así,  $V_m$  podría observarse en cada uno de los nodos de Ranvier, pero en diferentes instantes de tiempo (figura 4.1A). Si un electrodo extracelular,  $e$ , es colocado en las cercanías de una fibra, podría observarse el *SFAP*, el cual, matemáticamente, puede ser calculado como sigue:

$$SFAP = \sum_{i=-\infty}^{\infty} V_m \left( t - \frac{x_i}{v} \right) \cdot W_i \quad (4.1)$$

$$W_i = \begin{cases} W_{\max} \left( \frac{x_i - d_e}{d} \right) + W_{\max} & \text{if } d_e - d \leq x_i < d_e \\ -W_{\max} \left( \frac{x_i - d_e}{d} \right) + W_{\max} & \text{if } d_e \leq x_i \leq d_e + d \\ 0 & \text{othercase} \end{cases} \quad (4.2)$$

Donde  $W_i$  es un factor de ponderación que depende de la conductividad longitudinal y el área transversal del intersticio, como así también de la distancia entre el  $i$ -ésimo nodo y el electrodo extracelular (Andreasen y Struijk, 2002). En la ecuación 4.2,  $x_i$  es la distancia desde un hipotético origen en  $x = 0$  hasta el  $i$ -ésimo nodo,  $d_e$  es la distancia computada desde  $x = 0$  hasta el electrodo extracelular,  $d$  es la distancia entre la mínima y máxima atenuación de  $V_m$  (figura 4.1B).  $W_{\max}$  proporciona el mínimo factor de atenuación y ocurre en la posición longitudinal, cuya distancia entre el  $i$ -ésimo nodo y el electrodo de registro es mínima (posición  $x_i$  en la figura 4.1B).

En el modelo propuesto, se consideran  $N$  fibras miélinicas, por lo que  $W_{\max}$  es una función de la distancia perpendicular entre la  $j$ -ésima fibra y el electrodo de registro ( $df_j$  en la figura 4.1C).

$$W_{\max}(df) = \begin{cases} 1 - \frac{df}{\Theta_b} \alpha & \text{for } 0 \leq df < \frac{\Theta_b}{\alpha} \\ 0 & \text{othercase} \end{cases} \quad (4.3)$$

Donde  $\Theta b$  es el diámetro del haz de fibras nerviosas, y  $\alpha$  es una constante de proporcionalidad la cual está relacionada a la conductividad transversal del intersticio. La ecuación 4.3 es una recta de pendiente negativa y ordenada al origen 1, es decir que  $W_{max} = 1$  para  $df = 0$  (esto corresponde a una fibra que está en contacto con el electrodo de registro). Por otro lado,  $W_{max} = 0$ , para una  $df = \Theta b/\alpha$  (correspondiente a la actividad de la fibra más lejana). Luego para  $N$  fibras, el  $CAP$  es computado como sigue:

$$CAP_{e1} = \sum_{j=1}^N SFAP_j \quad (4.4)$$

$$CAP = CAP_{e1} - CAP_{e2} \quad (4.5)$$

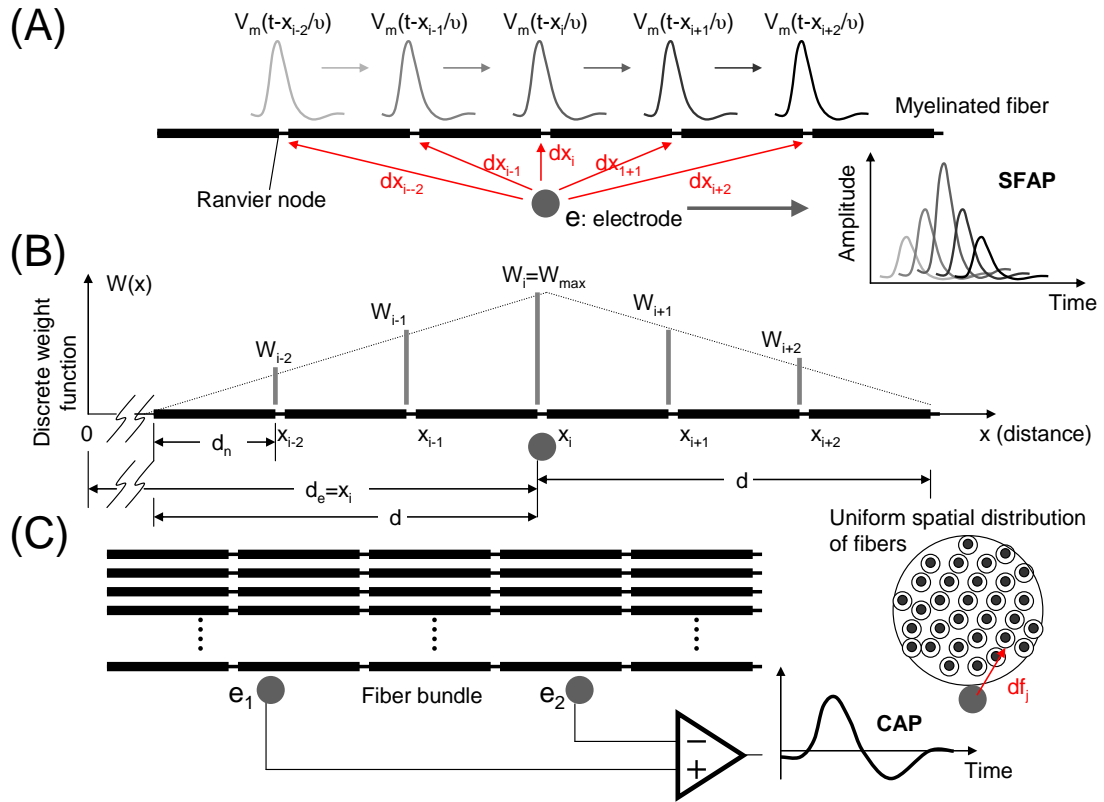
Donde  $SFAP$  es el potencial generado por la  $j$ -th fibra y  $CAP_{e1}$  es el potencial de acción compuesto registrado por el electrodo e1 (figura 4.1C). Finalmente, el  $CAP$  diferencial es obtenido con la ecuación 4.5.

#### 4.2.1 Simulaciones

El modelo propuesto fue sometido a simulaciones específicas con el fin de evaluar su comportamiento en diferentes condiciones experimentales. Se utilizaron dos tipos de nervio para el desarrollo de este modelo:

- 1) el nervio ciático de sapo, y
- 2) el nervio infraorbitario de rata.





**Figura 4.1:** Modelo simplificado de la actividad aferente multifibra. (A) Modelización del SFAP registrado a través de un electrodo de registro, e. La atenuación del impulso nervioso,  $V_m$ , depende de la distancia entre el  $i$ -th nodo y el electrodo de registro. (B) Factor de atenuación en función de la distancia al electrodo de registro. El origen,  $x=0$ , es considerado como el punto de partida, en el cual se desencadena el impulso nervioso,  $V_m$ . (C) Consideraciones esquemáticas para la modelización de un CAP en un haz de fibras mielínicas. La disposición espacial de fibras tiene una distribución uniforme en toda el área transversal del haz.

La implementación del modelo, en ambos casos, tuvo en cuenta las siguientes consideraciones (Reutskiy y cols., 2003; Wang y Fan, 1992): el axón tiene simetría cilíndrica, la sección transversal de la fibra es constante, los nodos de Ranvier están igualmente espaciados, las corrientes iónicas activas están concentradas en el nodo de Ranvier, la membrana internodal es totalmente pasiva, la sección transversal del axón es isopotencial, las concentraciones de iones son constantes, las fibras son paralelas y los nodos de Ranvier están alineados (figura 4.1C), las fibras no son idénticas, no hay acoplamiento radial directa entre fibras vecinas.

#### 4.2.1.1 Simulación de un nervio ciático.

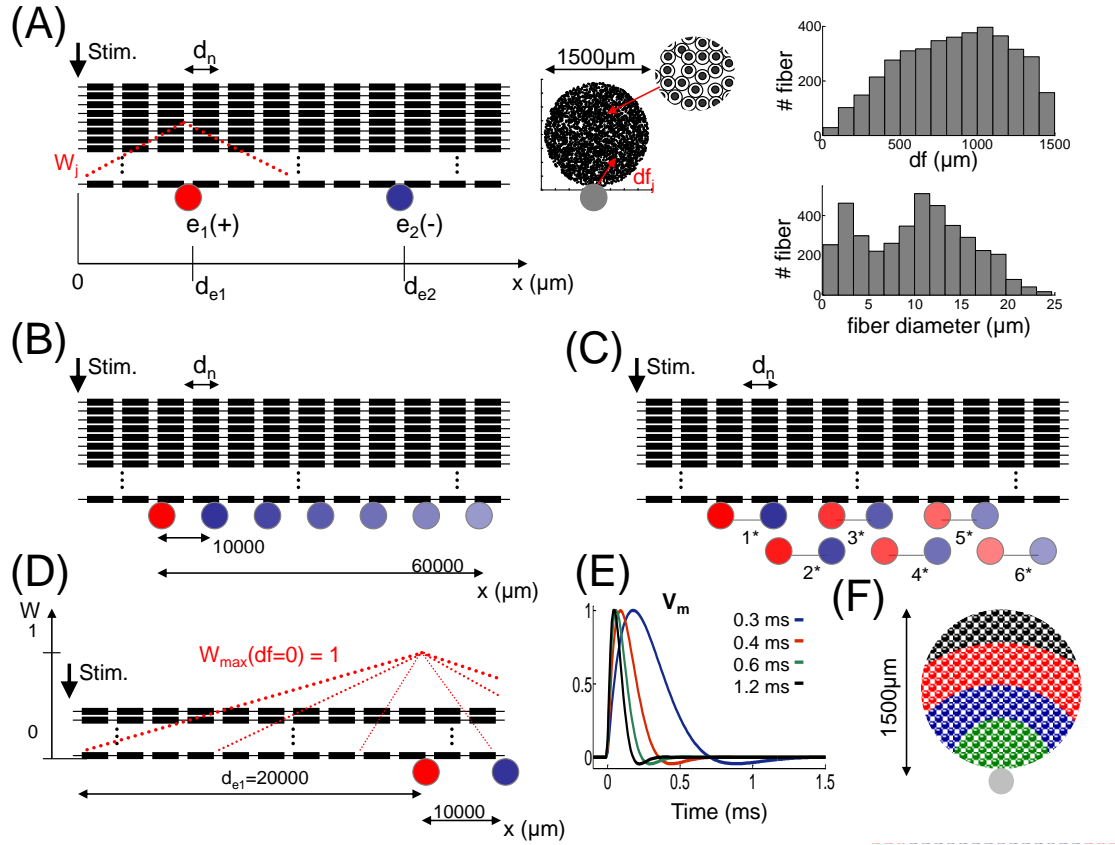
Los parámetros morfológicos del nervio ciático se obtuvieron de Wijesinghe y cols. (1991). Así, el nervio simulado tiene un diámetro de 1500  $\mu\text{m}$ , 4000 fibras mielínicas y una distancia entre nodos de 2000  $\mu\text{m}$ . Los diámetros de las fibras mielínicas tienen una distribución de frecuencias directamente proporcional a la velocidad de conducción (figura 4.2A). Los electrodos de registros  $e_1$  y  $e_2$  se colocan a distancias  $de_1$  y  $de_2$ , respectivamente, de manera que la distancia mínima entre  $e_1$  y la  $j$ -ésima fibra es cero (ídem para  $e_2$  - Fig. 4.2B). En estas

condiciones, la simulación determina los *CAPs* observados por ambos electrodos (modos monopolar y diferencial), originados por la aplicación de un estímulo supramaximal en  $x = 0$ , el cual despolariza la totalidad de las fibras, desencadenando así la propagación de  $V_m$  a lo largo de cada una de ellas. Diferentes situaciones experimentales fueron simuladas:

- a) Variación de la distancia inter-electrodo ( $|d_{e1} - d_{e2}|$ ).  $e1$  fue colocado a  $d_{e1} = 1$  cm, y  $e2$  fue colocado a distancias de modo que  $|d_{e1} - d_{e2}|$  fue 1, 2, 3, 4, 5 y 6 cm (Fig. 4.2B).
- b) Variación de la posición longitudinal de los electrodos de registro. La distancia inter-electrodo se mantuvo constante ( $|d_{e1} - d_{e2}| = 1$  cm), mientras que el par de electrodos fue desplazado longitudinalmente a 1, 2, 3, 4, 5 y 6 cm (Fig. 4.2C).
- c) Variación de apertura longitudinal de  $W_j$ . Se varió la distancia entre el mínimo y máximo valor de la función de ponderación,  $W_j$ , ( $d$  en la figura 4.1B).  $d$  fue preestablecido de acuerdo a la cantidad de nodos abarcados por  $W_j$ , siendo ésta la función de ponderación perteneciente a la fibra cuya  $df_j = 0$  (figura 4.1C). La cantidad de nodos considerados fueron, 10, 6 y 2 nodos. De esta manera, para una  $d_n = 2000 \mu\text{m}$ ,  $d$  fue igual a 2, 1.2 y 0.4 mm, respectivamente (figura 4.2D).
- d) Variación de la duración temporal de  $V_m$ . Las duraciones evaluadas fueron 0.3, 0.4, 0.6 y 1.2 ms (figura 4.2E).
- e) Variación de la conductividad transversal del intersticio. La conductividad del intersticio fue cualitativamente evaluada variando la función  $W_{max}$  (ecuación 4.3) de modo que  $W_{max}(df=0)$  fue igual a 1, 3/4, 1/2 y 1/4 (figura 4.2F).

#### 4.2.1.2 Simulación de un nervio infraorbitario.

Los parámetros morfológicos del nervio infraorbitario se obtuvieron de Jacquin et al. (1984). Se realizó la simulación de un haz de  $1265 \mu\text{m}$  de diámetro, 5207 fibras mielínicas con distribución de frecuencia aproximadamente gaussiana con una media igual a  $4.5 \mu\text{m}$  y desviación estándar  $1.5 \mu\text{m}$  (figura 4.3B). Debido a que se desconocen las distancias entre nodos, aquí se han considerado 4 posibles:  $d_n = 500, 1000, 1500$  y  $2000 \mu\text{m}$ .



**Figura 4.2:** Situaciones experimentales simuladas. (A) Esquema de disposición general de los electrodos  $e_1$ ,  $e_2$ , respecto a la geometría del haz. Los impulsos nerviosos, se generan en la posición  $x=0$  (por ej. debido a una estimulación supramaximal), y se propagan a lo largo de las fibras a velocidades de conducción específicas. Las fibras se distribuyen uniformemente en toda el área transversal del haz. El histograma superior muestra la distribución de distancias entre cada fibra y el electrodo de registro. Los diámetros de las fibras se asignan aleatoriamente y tienen una distribución específica (histograma inferior). (B) Variación de la distancia inter-electrodo. (C) Variación de la posición longitudinal de los electrodos de registro. (D) Variación de la apertura longitudinal de  $W_j$ . En este esquema solo se muestra el factor de ponderación perteneciente a la fibra en contacto con el electrodo  $e_1(+)$  ( $df_j=0$ ). (E) Variación de la duración temporal de  $V_m$ . (F) Variación de la conductividad transversal del intersticio (variación de  $\alpha$ ).

Las fibras se consideran distribuidas uniformemente en un área circular de  $1256000 \mu m^2$ . La velocidad de conducción se determinó experimentalmente (34.3 m/s) a través del protocolo descrito en sección subsiguiente (validación experimental). La velocidad de conducción fue asociada a las fibras de diámetro promedio (4.5  $\mu m$ ), estableciéndose un factor de proporcionalidad igual a 7.6 (m/s/ $\mu m$ ) (Ruch, 1973). Los electrodos de registros  $e_1$  y  $e_2$  fueron colocados a distancias  $d_{e1} = 1.2$  cm y  $d_{e2} = 1.6$  cm ( $|d_{e1} - d_{e2}| = 4$  mm).

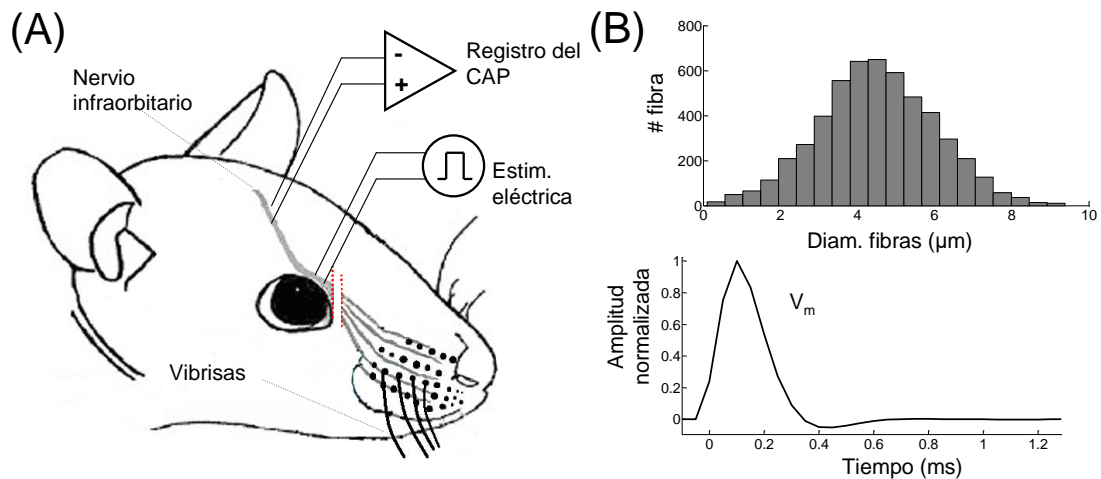
#### 4.2.2 Validación experimental

Para validar experimentalmente las simulaciones sobre la conducción nerviosa en el nervio infraorbitario, se realizaron experimentos agudos en ratas Wistar macho de 300 – 350 gr, bajo anestesia general con Uretano (150 mg/Kg). Se expuso el nervio infraorbitario (IO) del lado

derecho y se seccionó distalmente el nervio a la altura en que el IO ingresa a la región de las vibrisas (figura 4.3A).

Se insertaron, con una aguja hipodérmica, dos electrodos de estimulación (alambres de nícrón, 0.2 mm de diámetro; se retiró la capa aislante en alrededor de 0.5 mm del extremo) en el tronco del nervio infraorbitario. La distancia inter-electrodos de estimulación fue de 2.5 mm (figura 4.3A).

Se tomaron registros de la actividad del nervio infraorbitario con electrodos bipolares de plata, colocados sobre el nervio, y separados entre sí por aproximadamente 4 mm. La distancia entre los electrodos de estimulación y los de registros fue de 1.2 cm. Se estimuló con pulsos rectangulares de 1 Hz (30  $\mu$ s de duración, supramaximales). Se tomaron 40 registros de 7 mseg cada uno y, posteriormente, se promediaron los CAPs generados.



**Figura 4.3:** Validación experimental. (A) Diagrama esquemático del protocolo experimental usado para registrar los CAPs en el nervio infraorbitario. (B) Consideraciones teóricas del modelo: Arriba, histograma de la distribución de diámetros pertenecientes a un haz de 5207 fibras miélicas; abajo, impulso nervioso que se propaga a lo largo de todas las fibras del nervio infraorbitario.

### 4.3 Resultados

El modelo propuesto en este trabajo permite estimar cualitativa y cuantitativamente la morfología de los CAPs evocados en un haz de fibras miélicas. Para ello el modelo requiere un conocimiento previo de las características morfológicas del haz, tales como diámetro total, distribución estadística de los diámetros de todas las fibras, velocidad de conducción, y el impulso nervioso medido en los nodos de Ranvier. Así mismo, se requieren conocer las características específicas del set experimental que se desea simular, tales como la posición de los electrodos de registro, respecto del lugar donde se genera el impulso nervioso (es decir, la posición del electrodo de estimulación). En la figura 4.4A se observa el resultado de una simulación que reproduce la siguiente situación experimental: los electrodos de registro se colocan longitudinalmente a distancias de 10000 y 20000  $\mu$ m del electrodo de estimulación en un nervio ciático. A través de

una estimulación supramaximal se desencadena la propagación de impulsos nerviosos por cada una de las fibras, los cuales se propagan a diferentes velocidades de conducción. Así, es posible determinar los *CAPs* monofásicos obtenidos por cada uno de los electrodos ( $CAP_{e1}$  y  $CAP_{e2}$ ) así como también el *CAP* diferencial. Esta simulación fue realizada considerando un impulso nervioso de 0.5 ms de duración y amplitud unitaria (línea gris).

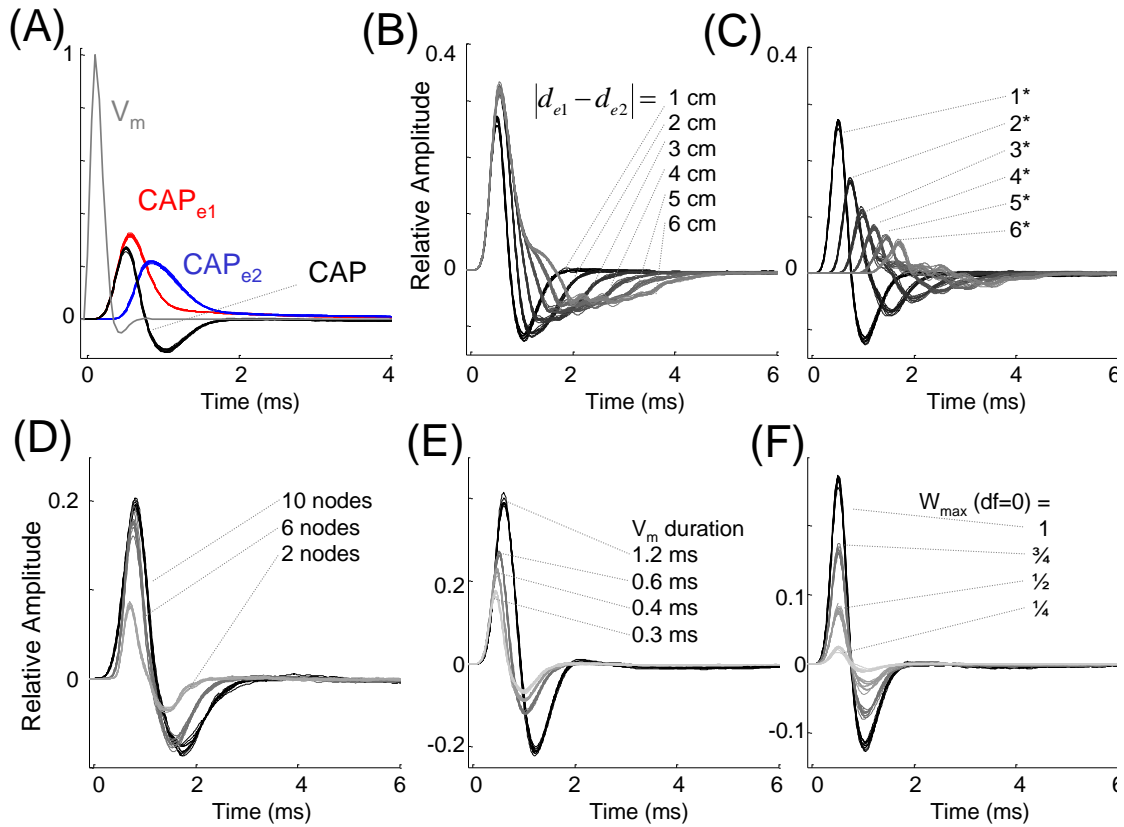
La figura 4.4B muestra la simulación de *CAPs* diferenciales para distancias inter-electrodos incrementales. El electrodo  $e_1$  se mantiene en la posición 10000 $\mu$ m, mientras la posición de  $e_2$  varía. Se observa que la duración del *CAP* tiene un comportamiento incremental con  $|d_{e1} - d_{e2}|$ . Es importante destacar que la simulación de cada situación experimental fue repetida 10 veces, con la intención de observar la variabilidad debido a la distribución aleatoria de las fibras sobre la superficie transversal del haz.

El incremento de la distancia entre los electrodos de registro y el origen de los impulsos nerviosos produce una disminución en la amplitud del *CAP* diferencial, mientras que la duración de estos se mantiene constante (figura 4.4C). Al mismo tiempo se observa la aparición de picos secundarios debido al aporte de fibras de menor diámetro (menor velocidad de propagación). Estas simulaciones fueron realizadas considerando una conductividad longitudinal del intersticio nervioso tal que, el electrodo de registro, sea capaz de capturar la actividad eléctrica desde las fibras en contacto con el mismo y hasta las fibras a una distancia de 100  $\mu$ m a la redonda (equivalente a 5 nodos de Ranvier hacia cada lado). La variación de esta característica (indirectamente relacionada con la conductividad longitudinal del intersticio) produce variaciones de amplitud y duración en los *CAPs* diferenciales simulados (figura 4.4D). Estos cambios pueden atribuirse a la cantidad de impulsos nerviosos que el electrodo de registro es capaz de capturar.

La figura 4.4E muestra los *CAPs* diferenciales simulados para impulsos nerviosos de duración incremental. Estas simulaciones, en particular, fueron tenidas en cuenta debido a que la morfología del impulso nervioso (potencial registrado en un nodo) depende de las características morfológicas del nervio. La amplitud de los  $V_m$ , en todos los casos se mantuvo constante (igual a uno).

El incremento de la conductividad transversal, la cual está relacionada con la cantidad de fibras activas capturadas por un electrodo de registro, evoca una disminución en la amplitud relativa de los *CAPs* diferenciales (figura 4.4F). La duración de estos se mantiene sin cambios significativos.

La figura 4.5A muestra las simulaciones obtenidas en el nervio infraorbitario, teniendo en cuenta características morfológicas específicas. Debido a que la distancia entre nodos de Ranvier no se encuentra en la bibliografía citada, en estas simulaciones se consideraron 4 medidas posibles: 500, 1000, 1500 y 2000  $\mu$ m. La duración del impulso nervioso es constante e igual a 0.5 ms.



**Figura 4.4:** Simulaciones en el nervio ciático. **(A)** CAPs obtenidos a través de los electrodos de registro (rojo y azul) y CAP diferencial (negro). En gris se observa el impulso nervioso que viaja a lo largo de cada una de las fibras del nervio. Las amplitudes de los CAPs son relativas a la amplitud de  $V_m$ . Las características morfológicas del nervio simulado fueron: diámetro del haz  $1500\mu m$ , 10 nodos,  $d_n=2000\mu m$ , posiciones de  $e1$  y  $e2$ ,  $10000$  y  $20000\mu m$ , respectivamente. En todos los casos 10 simulaciones fueron realizadas. **(B)** Variación de la distancia inter-electrodo. La posición del electrodo  $e1$  no varía y es  $10000\mu m$ . **(C)** CAPs diferenciales obtenidos desde los electrodos colocados a diferentes distancias. **(D)** CAPs diferenciales obtenidos para diferentes aperturas longitudinales de  $W_j$ . Las aperturas longitudinales son consideradas tal que abarcan la actividad de 10, 6 y 2 nodos. **(E)** CAPs diferenciales para  $V_m$  de diferentes duraciones. **(F)** CAPs diferenciales para diferentes valores  $\alpha$ .

Los CAPs diferenciales así simulados muestran variaciones de amplitud y duración. Finalmente, el modelo propuesto describe, tal como se muestra en la figura 4.5B, los CAPs registrados experimentalmente. Es importante destacar que las simulaciones realizadas requieren el conocimiento previo de la velocidad de propagación promedio, la cual, en este trabajo, fue experimentalmente determinada empleando el protocolo descrito en la sección de Materiales y Métodos.

#### 4.4 Discusiones

Los estudios sobre conducción nerviosa clásica han sido ampliamente utilizados para caracterizar electrofisiológicamente a un nervio. Su implementación permite exponer conceptos fundamentales de la electrofisiología clásica (Ruch, 1973), a la vez que facilita la validación de nuevos protocolos de registro, estudios sobre estimulación nerviosa y modelos matemáticos / computacionales que describen la génesis y dinámica del CAPs (Wijesinghe y cols., 1991). En

este trabajo hemos simulado diferentes condiciones experimentales utilizadas en la caracterización electrofisiológica del nervio ciático de sapo (Erlanger y Gasser, 1937). La validación de las simulaciones obtenidas, se realizó en base a publicaciones previas sobre procedimientos y protocolos para el registro del *CAP* en fibras nerviosas.

Tras establecer una morfología predeterminada para el impulso nervioso,  $V_m$ , el cual se propaga a lo largo de cada una de las fibras del haz, con perfiles de velocidad específicos (directamente relacionados al diámetro), fue posible determinar los *CAPs* registrados a través de electrodos extracelulares en configuraciones monopolar y diferencial. Las simulaciones realizadas revelan una forma de onda del *CAP* que se ajusta adecuadamente a los datos experimentales (Silverman y Brunett, 1978). Sin embargo, es importante destacar que el modelo propuesto supone un contacto puntual con impedancia de interfase nula, lo cual simplifica considerablemente su formulación. Un mejor ajuste podría realizarse a través de una aproximación no-lineal, la cual modele un área de contacto, por ejemplo, haciendo uso de la teoría de interfase electrodo-electrolito (Ruiz y Felice, 2007).

La modelización de condiciones experimentales en las cuales se varían las distancias entre los electrodos de registro y estimulación, permitiría al experimentador predecir los posicionamientos adecuados con el fin de observar la contribución de fibras más lentas (McComas, 2011). En las simulaciones de las figuras 4.4B y 4.4C se observa esta particularidad. El alejamiento del electrodo  $e_2$  revela la contribución de fibras de menor diámetro en el *CAP* registrado (Erlanger y Gasser, 1937). Por otro lado, se observa una disminución en la amplitud del *CAP* con el aumento de la distancia entre los electrodos de registro y estimulación. Teóricamente, este comportamiento se debe a que los impulsos nerviosos se propagan por las fibras nerviosas a diferentes velocidades. Esto genera, en los electrodos de registro, agrupamientos de *SFAP* cada vez más diferenciales (McComas, 2011). Sin embargo, Pehlivan y cols., (2004) demostró que los cambios de amplitud también pueden atribuirse a la variabilidad en la distribución anatómica de fibras a lo largo del haz nervioso. En este sentido, el modelo propuesto podría explicar parcialmente esta particularidad, a través del análisis de las variaciones de amplitud del *CAP*, tanto en el modelo como en los observados experimentalmente. Luego, las diferencias entre ambas observaciones podrían revelar las contribuciones debidas a las irregularidades anatómicas del nervio.

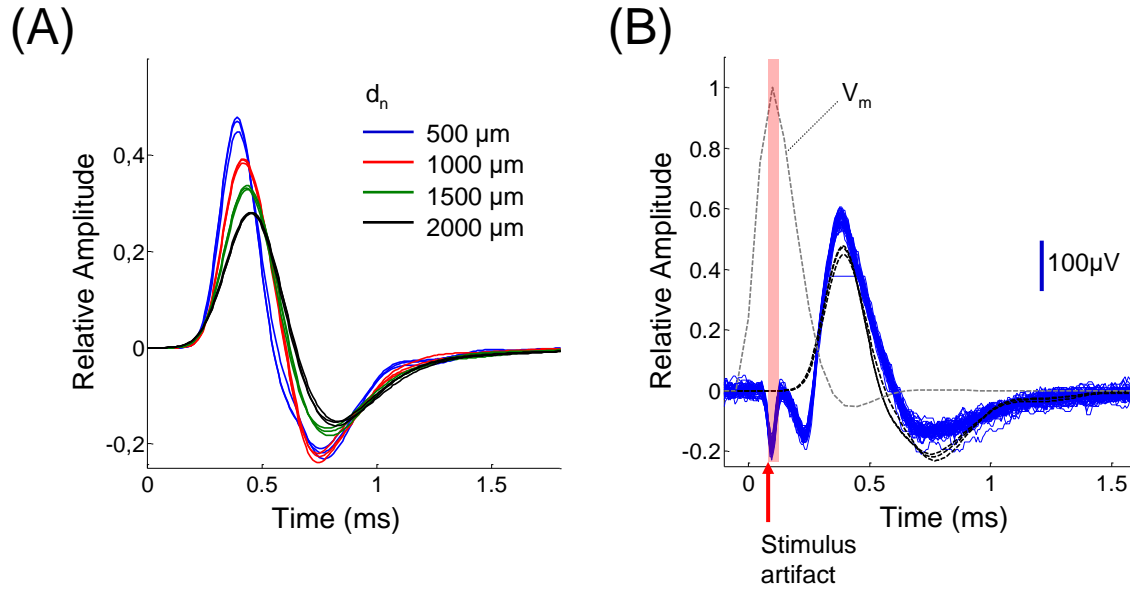
Wijesinghe y cols., (1991) demostró, teórica y experimentalmente, que la forma de onda del *CAP* presenta cambios de amplitud cuando varía la conductancia del intersticio. El modelo propuesto ha reproducido adecuadamente estos cambios (figuras 4.4D y 4.4F), a través de variaciones cualitativas en las conductividades longitudinal y transversal. Es importante destacar que las simulaciones realizadas se basan en propiedades ideales de conducción: en un medio conductor homogéneo y resistivo. Sin embargo, es bien conocido que los medios de conducción en los sistemas biológicos presentan un alto grado de anisotropía, involucrando así, formulaciones

no lineales en su modelización (Altman y Plonsey, 1989). Por otra parte, ciertas características anatómicas del nervio, como son las dimensiones intrínsecas de las fibras que lo componen, producen cambios morfológicos en los potenciales del mismo. Así, por ejemplo, la velocidad de conducción del impulso nervioso está directamente relacionada con el diámetro de la fibra (Ruch, 1973). Contento y cols. (1983), demostraron que variaciones morfológicas del *SFAP* afectan significativamente al *CAP*.

Para comprobar la versatilidad de nuestra implementación, hemos simulado variaciones intrínsecas del impulso nervioso ( $V_m$ ), bajo la hipótesis de que estos potenciales cambian la forma de onda del *SFAP*, y así se obtuvieron los *CAPs* correspondientes. Los resultados han mostrado variaciones de amplitud y duración en los *CAPs*, conforme a diferentes duraciones de  $V_m$ . Por otro lado, el modelo permitiría, además, cambiar la forma de onda de  $V_m$  (no solo parámetros temporales) y determinar cambios cualitativos en los *CAPs*. Esta particularidad, le agrega flexibilidad al modelo, además de la capacidad de adecuarse a diferentes hipótesis experimentales.

La validación experimental del modelo se realizó a través de un protocolo estándar para la generación del *CAP* en el nervio infraorbitario de rata. Los datos anatómicos del nervio infraorbitario fueron previamente documentados por Jacquin y cols. (1984), no así su caracterización electrofisiológica. Las simulaciones realizadas ajustan adecuadamente los resultados experimentales (figura 4.5B), sin embargo, algunas consideraciones deben tenerse en cuenta. En primer lugar, el modelo propuesto requiere el conocimiento previo de ciertas características anatómicas del nervio, tales como diámetros de las fibras, distancia entre nodos y velocidad de conducción. En particular, la distancia entre fibras no fue documentada por Jacquin y cols. (1984), por lo que se tuvieron que implementar diferentes valores. A través de un análisis cualitativo se determinó que el mejor ajuste resulta para una distancia entre nodos de 500  $\mu\text{m}$ . Nuevamente, el modelo puede predecir con gran precisión las características temporales del *CAP*, mientras que las características de amplitud solo pueden ser cuantificadas respecto a la amplitud del impulso nervioso (amplitudes relativas).





**Figura 4.5:** Simulaciones en el nervio infraorbitario y registros experimentales. **(A)** CAPs diferenciales obtenidos para fibras con diferentes distancias entre nodos. Se realizaron tres simulaciones para cada caso. Las amplitudes de los CAPs son relativas al impulso nervioso ( $V_m$ ). Las especificaciones comunes de estas simulaciones fueron: diámetro del haz 1265  $\mu\text{m}$ , 10 nodos,  $d_n$ =variable, posiciones de  $e_1$  y  $e_2$ , 12000 y 16000  $\mu\text{m}$ , respectivamente. **(B)** 40 registros CAPs diferenciales obtenidos experimentalmente (azul) y 3 CAPs simulados (líneas de trazo negro). El impulso nervioso coincide temporalmente con el artefacto de estímulo en los registros experimentales.

#### 4.5 Conclusiones parciales

El modelo propuesto reúne, de manera cualitativa y cuantitativa, las características más relevantes de la conducción nerviosa en fibras mielínicas, permitiendo así parametrizar, de manera simplificada e intuitiva, condiciones experimentales reales. Permite la entrada de parámetros simples, los cuales pueden representar condiciones intrínsecas y dinámicas de la conducción nerviosa. La validación experimental ha demostrado un adecuado ajuste del modelo. Finalmente, la evaluación global del modelo revela importantes características de simplicidad, versatilidad y robustez, las cuales pueden ser aprovechadas tanto en áreas vinculadas a la educación, como a la experimentación científica.

## Capítulo 5: Respuesta en frecuencia del complejo seno-folicular y sintonía con las características mecánicas de la vibrisa

### 5.1 Introducción

El sistema sensorial de las vibrisas está presente en muchos mamíferos, pero sólo en algunos roedores ha tenido un desarrollo muy específico. Estos últimos utilizan los bigotes o pelos táctiles para obtener información táctil del medio ambiente útil para su supervivencia (Vincent, 1912). El movimiento de las vibrisas está controlado por una vía motora que genera un patrón de movimientos que, a su vez, produce un barrido característico denominado en inglés “whisking” o barrido. Este sistema sensorial ha sido estudiado por mucho tiempo y desde diferentes puntos de vista, lo que ha permitido una mayor comprensión de la forma en que este sistema integra información táctil para sentir el mundo (Maravall y Diamond, 2014). En los últimos años, diferentes autores contribuyeron con sus trabajos al conocimiento de los códigos neurales que subyacen a aspectos de la percepción táctil como la discriminación de texturas, la localización de objetos y la integración de patrones motores. Todos estos estudios contribuyeron a la formulación de posibles mecanismos de transducción que subyacen a la localización de objetos (Kleinfeld y Deschênes, 2011; Knutsen y Ahissar, 2009; O’Connor y cols., 2013; Szwed y cols., 2003), reconocimientos de forma, tamaño y textura de objetos (Albarracín y cols., 2006; Arabzadeh y cols., 2005; Diamond y cols., 2008; Farfán y cols., 2007; Jadhav y cols., 2009) y a la integración de patrones motores (Hill y cols., 2008, 2011). En los últimos años se formularon tres hipótesis en relación a la discriminación de texturas (Andermann y cols., 2004; Jadhav y Feldman, 2010; Wolfe y cols., 2008) y que aún se encuentran bajo discusión. Además, estudios conductuales clásicos (Carvell y Simons, 1990; Guic-Robles y cols., 1989; Harvey y cols., 2001; Knutsen, 2004) y, los más recientes, combinando pruebas conductuales con técnicas de monitoreo de las vibrisas (Arkley y cols., 2014; Pammer y cols., 2013; Prescott y cols., 2011; Yu y cols., 2016a) han contribuido a nuestro conocimiento sobre la integración sensorial que realizan estos animales con los sensores táctiles en el mundo real.

En los últimos años, el desarrollo de modelos matemáticos aplicados en esta área realizó extraordinarios aportes al conocimiento de aspectos mecánicos y fisiológicos de este sistema sensorial (Lucianna y cols., 2016a). Neimark y cols. (2003) propusieron por primera vez un mecanismo de codificación de los estímulos táctiles generados en este sistema sensorial. Esta hipótesis relacionaba la longitud de los bigotes táctiles con una frecuencia de resonancia específica. Años más tarde Yan y cols. (2013) presentaron otro modelo que analizaba la frecuencia de vibración en las vibrisas de la rata y, finalmente, Quist y Hartmann, (2012) incluyeron en el modelo de la vibrisa los efectos de la inercia, la amortiguación y las colisiones.

Además, Bagdasarian y cols., (2013) han demostrado mediante el seguimiento de los folículos expuestos, que la unión folículo-bigote es rígida. Esto sugiere que los mecanorreceptores tienen una lectura directa de la codificación morfológica de la vibrisa. En otras palabras, en el sistema vibrisal, las deformaciones morfológicas de los bigotes parecen ser componentes del tacto activo, junto con la actividad motora, física, mecánica y neuronal.

Además, se demostró que las ratas pueden medir la dirección del flujo de aire a través de la posición de su vibrisa. Las vibrisas se doblan principalmente en la dirección del flujo de aire y vibran alrededor de frecuencias relacionadas con sus modos de resonancia (Yu y cols., 2016b).

Algunos autores emplearon la estimulación manual para desviar las vibrisas de una manera que se desacoplen los componentes cinemáticos de los componentes mecánicos y así demostrar que las neuronas sensoriales primarias en el ganglio trigeminal codifican más directamente señales mecánicas (Bush y cols., 2016). También se propuso que la estimulación a diferentes frecuencias de las vibrisas es una poderosa herramienta que permite visualizar la actividad neuronal en la corteza somatosensorial en respuesta a la estimulación de una sola vibrisa (Tsytarev y cols., 2016).

En este capítulo se presenta un estudio de la respuesta de los mecanorreceptores del CSF a la activación mecánica de la vibrisa por medio de diferentes frecuencias. Los resultados permitieron establecer correlaciones directas entre cada CSF y su correspondiente vibrisa. Se seleccionaron cuatro vibrisas (E1, E2, D3 y Gamma). Se utilizó un estimulador mecánico en la base del eje vibrisal para generar su movimiento a diferentes frecuencias y registrar la actividad aferente en el nervio vibrisal correspondiente. Se encontró que la actividad evocada en el CSF tiene un comportamiento similar al de la respuesta mecánica obtenida a partir de una vibración aislada, previamente demostrada por otros autores, y que cada CSF estudiado está sintonizado con su correspondiente vibrisa.

## 5.2 Protocolo experimental y sustento teórico

### 5.2.1 Métodos experimentales

#### 5.2.1.1. Registros electrofisiológicos

Se obtuvieron registros electrofisiológicos de nervios vibrisales de 4 ratas Wistar macho adultas con un peso entre 550-700g. Se les aplicó anestesia quirúrgica mediante clorprotixeno (1mg/Kg) y uretano (1,5g/Kg) y se les mantuvo la temperatura a 37°C mediante una camilla térmica servo-controlada. Todos los protocolos de cirugía utilizados, han sido descritos en detalle en trabajos previos (ver Albarracín y cols., 2006). Un arreglo de electrodos tipo Utah fue insertado en la superficie del nervio infraorbitario. Se utilizaron estímulos manuales en todas las vibrisas para correlacionar las descargas de las fibras activadas y registradas en cada electrodo

con la vibrisa correspondiente. El arreglo de electrodos tipo Utah está formado por 36 microelectrodos de tungsteno en una disposición 6 x 6, cubriendo una superficie de 2 x 2 mm<sup>2</sup> (espaciados 400um). La actividad nerviosa fue registrada y digitalizada a 20 KHz (frecuencia de muestreo) con un amplificador MPA32I (Mutichannel Systems, MCS) y con un filtro tipo ranura de 50 Hz.

Todos los experimentos se llevaron a cabo en la Universidad Miguel Hernández conforme a las directivas 2010/63/EU del Parlamento Europeo y del Concejo, y las regulaciones españolas RD 53/2013 sobre protección del uso de animales para propósitos científicos.

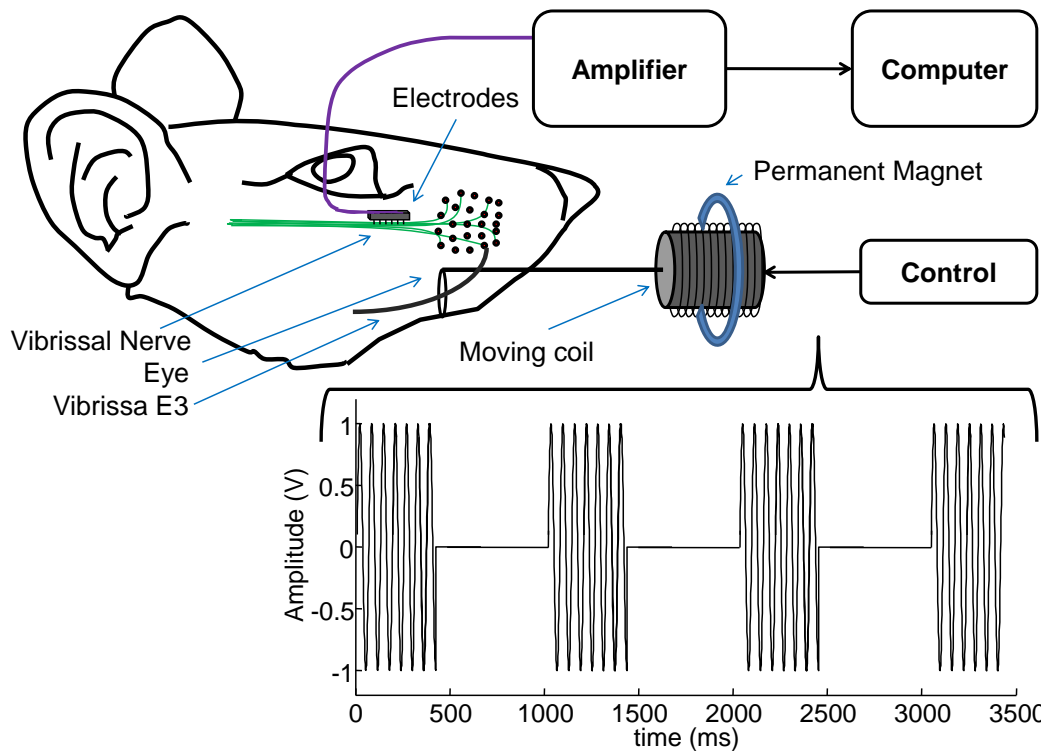
#### *5.2.1.2. Estimulador mecánico*

El estimulador mecánico fue construido con un imán permanente fijo y una bobina móvil alimentada por un generador de señales eléctricas sinusoidales de amplitud fija y frecuencia variable. En la bobina móvil, se adhirió una barra de manera que esta se desplace longitudinalmente cuando el estimulador es activado. En el extremo distal de la barra se colocó un ojal para enhebrar la vibrisa a ser estimulada. Así, fue posible inducir los movimientos mecánicos sinusoidales con amplitud y frecuencia controlada.

El estimulador fue alimentado por un circuito de control de secuencia programable capaz de activar y desactivar el estimulador automáticamente. Además, cuenta con una señal de referencia para identificar los tiempos de estímulo (figura 5.1).

#### *5.2.1.3. Protocolo experimental*

Se colocó la vibrisa en el estimulador mecánico y, como fue descrito anteriormente, se indujeron movimientos mecánicos. Para cada frecuencia (desde 10 Hz hasta 130 Hz con incrementos escalonados de 10 Hz) se realizaron 16 repeticiones de 450 ms de duración seguidos de un periodo de descanso de 650 ms. Al finalizar, se repitió el estímulo de 70 Hz para verificar que el electrodo no se desplazó durante el experimento. Finalmente, se repitió el mismo protocolo con la vibrisa desplazada 1 mm hacia adelante desde su posición natural, para evaluar si generaba algún efecto sobre la frecuencia de resonancia.



**Figura 5.1:** Esquema del set experimental utilizado para realizar los estímulos mecánicos con barrido de frecuencia.

### 5.2.2 Procesamiento de las señales

El análisis de las señales nerviosas se realizó en Matlab - MathWorks -. Para extraer los Potenciales de Campo Locales (o LFP, por sus siglas en inglés) se utilizó una librería abierta de Matlab de detección y clasificación sin supervisión de eventos con clasificadores basados en wavelets y parámetros superparamagnéticos (Quiroga y cols., 2004). Esta misma herramienta se utilizó para realizar una clasificación supervisada de los LFP.

Se calculó la tasa de disparo de las 16 repeticiones de cada estímulo y se promediaron los valores obtenidos. También, se midió el valor de la raíz cuadrática media (RMS) de cada LFP detectado. Este análisis se realizó tanto con los eventos clasificados en grupos como con todos los eventos juntos sin clasificar.

### 5.2.3 Mediciones teóricas

Con el fin de comparar y validar nuestros resultados experimentales, usamos dos modelos conocidos del comportamiento mecánico de la vibrisa para estimar la frecuencia de resonancia teórica de cada vibrisa estudiada.

#### 5.2.3.1 Frecuencia de resonancia estimada de la vibrisa

Neimark y cols. (2003) propuso utilizar una vara cónica truncada para modelar las vibraciones de la vibrisa, ya que es el cuerpo que mejor se aproxima a la forma y el

comportamiento de resonancia de las vibrisas. La frecuencia de resonancia de una barra cónica está dada por la ecuación 5.1:

$$\omega_n = \frac{k_n^2 r_{base}}{2 \pi L^2} \sqrt{\frac{E}{\rho}} \quad (5.1)$$

en donde  $r_{base}$  es el radio de la base,  $L$  es el largo,  $\rho$  es la densidad de la vibrisa,  $E$  es el módulo de elasticidad, y  $k_n$  son constantes que encapsulan las condiciones de contorno y la geometría de la vibrisa (ver el artículo citado). Luego, usando la ecuación 5.2 obtenemos la frecuencia de resonancia estimada.

$$f = \frac{\omega}{2\pi} \quad (5.2)$$

Además, Hartmann y cols., (2003) presentó un modelo similar usando vara cónica truncada voladiza. Así, de acuerdo a la teoría de Georgian, (1965), una vara cónica fijada en un extremo y libre para vibrar en el otro extremo tendrá frecuencias de resonancia  $f_n$  que se define en la ecuación 5.3:

$$f_n = \frac{\lambda_n}{L^2} \sqrt{\frac{E I}{\rho A_b}} \quad (5.3)$$

en donde,  $\lambda_n$  son constantes tabuladas determinadas por las condiciones de contorno,  $A_b$  es el área de la base y  $I$  es el momento de inercia en la base del cono.

#### 5.2.3.2 Parámetros de las vibrisas

Los parámetros de las vibrisas listados en la tabla 5.1, los módulos de elasticidad y las constantes  $k_n$ , se obtuvieron del trabajo de Neimark y cols., (2003).

**Tabla 5.1. Medidas vibrisales**

| Whisker | Largo (mm) | Diámetro de la base<br>(mm) | Densidad<br>(mg/mm <sup>3</sup> ) |
|---------|------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| E1      | 36         | 0.155                       | 1.33                              |
| E2      | 38         | 0.18                        | 1.24                              |
| D3      | 28         | 0.14                        | 1.75                              |
| Gamma   | 42         | 0.15                        | 0.54                              |

## 5.3 Resultados

### 5.3.1 Resultados experimentales

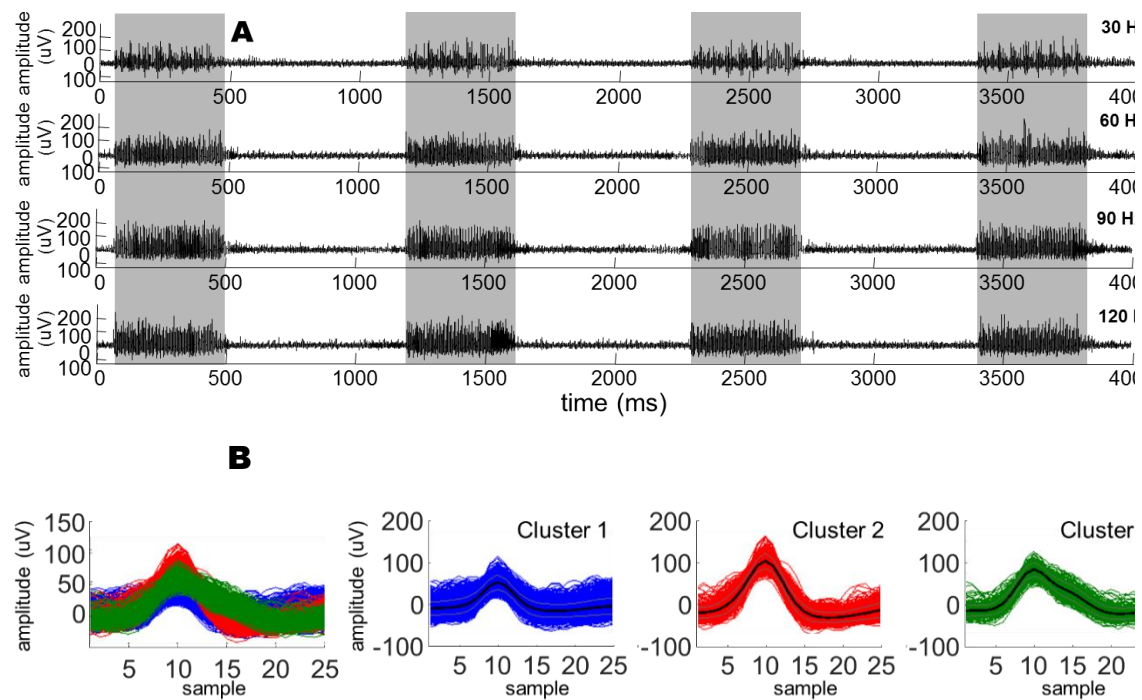
La selección de las vibrisas se determinó realizando una estimulación manual de las vibrisas y observando la actividad evocada en los electrodos de registro del arreglo de electrodos. En general, un determinado electrodo registró la actividad de fibras aferentes de una sola vibrisa. Se estudió la respuesta en frecuencia y la frecuencia de resonancia de los mecanorreceptores del complejo seno-folicular a través de los registros de actividad de las fibras nerviosas vibrisales,

En la figura 5.2A se muestran los registros obtenidos de las fibras correspondiente a la vibrisa D3, estimulada con 30, 60, 90 y 120 Hz (sin desplazamiento). A todas las señales se le aplicó un filtro pasa altos de 30 Hz para eliminar la deriva. Como se puede observar, en todos los casos hay una actividad evocada muy fuerte durante el estímulo (área sombreada) que desaparece casi completamente cuando finaliza el estímulo.

El protocolo experimental permite detectar potenciales de campo locales (LFP) relacionados con las diferentes vibrisas estimuladas. Aunque existe una notoria dispersión de los LFP en cuanto a su amplitud y forma, se clasificaron en tres grupos como se muestra en la Figura 5.2B.

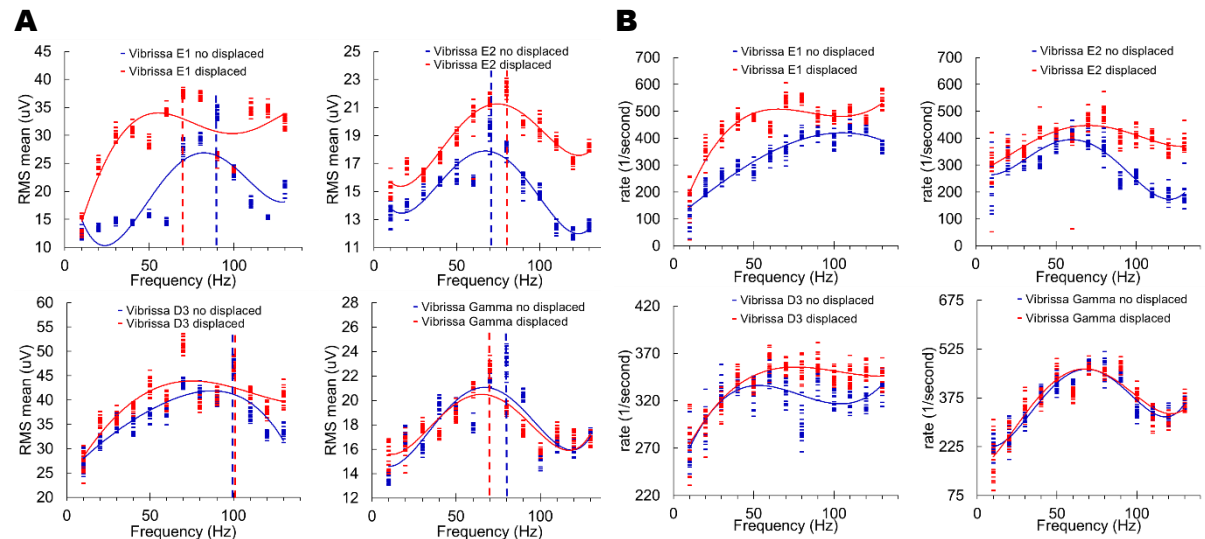
No se encontró ninguna relación entre los estímulos y las respuestas cuando se analizaron los datos separados en grupos. Sin embargo, cuando se analizaron todos los datos juntos, se encontraron fuertes evidencias de que existe un comportamiento particular relacionado a la frecuencia del estímulo.

En la figura 5.3 se observan los valores de tasa de disparo y RMS de los LFP obtenidos de las 16 repeticiones de cada estímulo. Se puede notar que, en todos los casos, tanto la tasa de disparo como los valores de los RMS aumentan linealmente con la frecuencia del estímulo (ver figura 5.4), hasta llegar a un máximo donde pierde la linealidad. Este comportamiento se observa tanto para los estímulos con y sin desplazamiento; y aunque se observe un incremento en la amplitud de las respuestas, no varía significativamente la frecuencia de estímulo donde la respuesta es máxima (considerando que la resolución en frecuencia de nuestro experimento es de 10 Hz). A la frecuencia donde ocurre la mayor respuesta del sistema, la llamaremos frecuencia de resonancia.



**Figura 5.2:** **A)** Registro de la actividad nerviosa en el nervio vibrisal aferente correspondiente a la vibrisa D3 para estímulos de 30 Hz, 60 Hz, 90 Hz y 120 Hz. **B)** LFP superpuestos y divididos en tres grupos, obtenidos en el registro de 110 Hz con desplazamiento.

Las frecuencias de resonancia, obtenidas de acuerdo a la relación entre los valores RMS y la frecuencia, dependen de cada vibrisa. Los valores obtenidos fueron 70 Hz, 80 Hz, 100 Hz y 70 Hz para las vibrisas E1, E2, D3 y Gamma respectivamente.

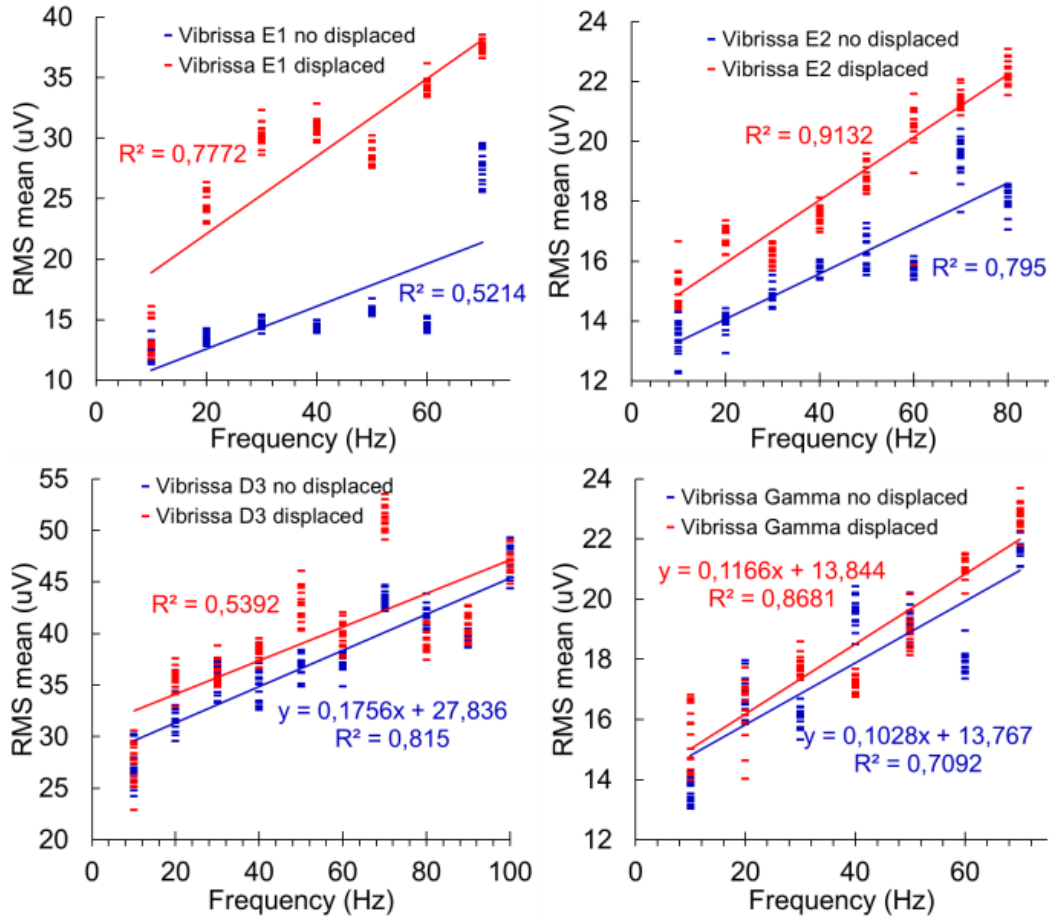


**Figura 5.3:** Guion rojo: media de cada repetición del estímulo, con desplazamiento; guion azul: sin desplazamiento; línea roja: curva de ajuste polinomial para los estímulos con desplazamiento; línea azul: sin desplazamiento. Tanto las líneas rojas como azules, son solo orientativas y no fueron utilizadas para obtener. **A)** Valores RMS vs. Frecuencia. **B)** Tasa de disparo vs. Frecuencia.

Luego, para cada vibrisa, se calculó una regresión lineal de las respuestas en frecuencia desde los 10 Hz hasta la frecuencia de resonancia. En la figura 5.4 se muestran las líneas de tendencia obtenidas que, en algunos casos alcanzan un ajuste de  $R^2 = 0.91$ .



Además, la relación obtenida desde las 16 repeticiones entre la tasa de disparo vs frecuencia muestra que, en todos los casos, la frecuencia de máxima respuesta solo cambia ligeramente cuando la vibrisa es desplazada, y el comportamiento es similar al descrito anteriormente (figura 5.3B). Los cambios en amplitud no son significativos.



**Figura 5.4:** Regresión lineal para frecuencias menores a la máxima. Guion rojo: media de cada repetición del estímulo, con desplazamiento; guion azul: sin desplazamiento; línea roja: curva de ajuste polinomial para los estímulos con desplazamiento; línea azul: sin desplazamiento.

Finalmente, en la figura 5.4 se observa que el desplazamiento de la vibrisa incrementa la respuesta cerca de la frecuencia de resonancia. Este efecto puede observarse analizando el incremento de la pendiente de la recta obtenida.

### 5.3.2 Resultados teóricos

A partir de los datos de la tabla 5.1 y utilizando las ecuaciones 5.1 y 5.2, se calculó la frecuencia de resonancia estimada para las 4 vibrisas bajo estudio. Las frecuencias de resonancia fueron, 70,37 Hz, 75,69 Hz, 91,59 Hz, y 78,52 Hz para las vibrisas E1, E2, D3 y Gamma respectivamente. Además, a partir de la ecuación 3 se estimó que las frecuencias de resonancia son 52,32 Hz, 70,48 Hz, 83,75 Hz and 50,41 Hz para las vibrisas E1, E2, D3 y Gamma respectivamente.

## 5.4 Discusiones

La deflexión de las vibrisas induce la activación de los mecanorreceptores distribuidos a lo largo del complejo seno-folículo. En el pasado, algunos autores sugirieron que la activación de estas terminaciones sensoriales estaría correlacionada con la forma que adquiere la vibrisa bajo las diferentes situaciones conductuales que desarrolla el animal (Ebara y cols., 2002; Mosconi y cols., 1993; Rice y cols., 1997). Sin embargo, estudios más recientes en los que se abordaron las propiedades físicas involucradas en la interacción de las vibrisas con el medio que rodea al animal, ha clarificado algunos aspectos sobre la activación de los mecanorreceptores en el CSF. En este sentido, hoy se tiene en claro que tanto las diferentes características físicas de los estímulos como las propiedades de las vibrisas, entre ellas la resonancia y la amortiguación, son determinantes críticos de las señales generadas cuando las vibrisas contactan con una superficie (Prescott y cols., 2009).

Los códigos neurales en respuesta a estímulos de diferente textura y a la deformación de la vibrisa generada por el barrido activo sobre estas superficies ha sido objeto de estudio de diferentes autores (Albarracín y cols., 2006; Farfán y cols., 2011, 2013). Por otra parte, y a pesar de que aún no existe consenso en cuanto a los mecanismos de transducción mecánica de las vibrisas, gran aporte han proporcionado los estudios sobre la frecuencia de resonancia mecánica de las vibrisas basados tanto en datos teóricos como experimentales (Boubenec y cols., 2012; Hartmann y cols., 2003; Neimark y cols., 2003). Por lo tanto, nuevos estudios acerca del comportamiento de los receptores del CSF frente a cambios mecánicos generados por estímulos controlados de diferentes frecuencias serán un importante aporte al conocimiento de este sistema sensorial.

Es importante aclarar que, debido al contexto de nuestro protocolo experimental en donde la estimulación fue aplicada en la base de la vibrisa, las características físicas (longitud, grosor, dureza, flexibilidad, entre otras), que afectarían al comportamiento mecánico de la vibrisa, no son consideradas relevantes. En esta sección, se discutirá la respuesta en frecuencia del CSF y se comparará con las referencias bibliográficas.

Como se mencionó anteriormente, se registraron los potenciales de campo locales. Los LFP están constituidos por la actividad conjunta de una cantidad de fibras situadas cerca del electrodo de registro y disparando simultáneamente. En el caso de la principal inervación del CSF – el Nervio vibrisal profundo-, alrededor de 200 axones mielínicos de adaptación rápida y lenta, llevan la información aferente de las vibrisas. Por lo tanto, un aumento en el tamaño de los LFP, representan un aumento en la cuenta de fibras activas alrededor del electrodo de registro (Pizá y cols., 2016) y, por lo tanto, un aumento de su valor RMS.

A menudo, para evaluar la relación entre la entrada y la salida del sistema, se utilizan las funciones de transferencia. Así, construimos una curva de transferencia del CSF, que modela la

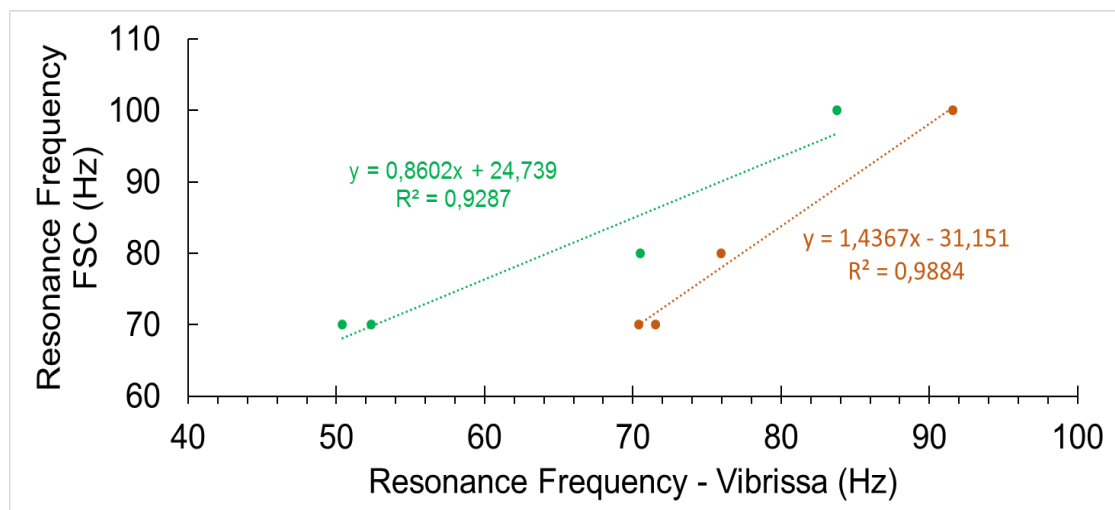
variable de salida (RMS o Firing-Rate) con la variable de entrada del sistema (Frecuencia). La Figura 5.3 y 5.4 muestra las curvas de transferencia obtenidas. En la figura 5.3 se puede observar un comportamiento general para todos los casos; es decir, la variable de salida aumenta linealmente con la frecuencia de entrada hasta un máximo, y luego comienza a disminuir.

Si se comparan estas curvas con las obtenidas a partir de estudios similares realizados en vibrisas aisladas (Hartmann y cols., 2003), los resultados pueden ser comparables. Los máximos ocurridos en los estudios de respuesta de frecuencia presentados por Hartmann et al., se producen en una frecuencia específica que depende de la naturaleza de cada vibrisa.

En base a nuestros resultados y todo lo expuesto anteriormente, sugerimos que cada CSF podría estar en sintonía con su vibrisa correspondiente. Así, nombramos a la frecuencia de máxima respuesta, y de acuerdo con la bibliografía, como la Respuesta de Resonancia del CSF. Además, especulamos que la frecuencia de resonancia es una característica del CSF y no depende de la posición de la vibrisa, dado que, la frecuencia de resonancia no cambia significativamente entre los dos casos evaluados (con y sin desplazamiento).

Además, si se considera la respuesta a frecuencias inferiores a la frecuencia de resonancia, se observa un comportamiento lineal, por lo que la pendiente de la curva representa la sensibilidad del sistema al espectro de frecuencias. La Figura 5.5 muestra que el CSF no tiene la capacidad de discriminar el desplazamiento a baja frecuencia, pero con estímulos de frecuencias cercanas a la frecuencia de resonancia, si se observan diferencias entre los dos estímulos, es decir, el CSF sería más sensible al desplazamiento vibrisal en este sector del espectro.

Comparando los resultados obtenidos con los resultados mecánicos, en el diagrama de dispersión presentado en la Figura 5.6, donde se muestra la relación de frecuencias de las 4 vibrisas, se encontró una relación significativa entre ambos tipos de frecuencias de resonancia. Utilizando datos de 5.1 y 5.2, se obtiene una recta con pendiente positiva de 0.87 y 1.44 y una correlación  $R^2 = 0.92$  y  $0.98$ , del modelo Hartmann (línea verde) y Neimark (línea naranja), respectivamente.



**Figura 5.5:** Diagrama de dispersión y recta de regresión lineal de las frecuencias de resonancia medidas en el CSF vs. La frecuencia de resonancia mecánica calculada. En verde, datos obtenidos con el modelo de Hartmann y en naranja, datos obtenidos del modelo de Neimark.

Esta recta de ajuste nos permite afirmar que existe una sintonía entre cada vibrisa y su CSF, entendiendo "sintonía" como la igualdad de frecuencias de resonancia entre dos sistemas vibratorios (definición física). Sin embargo, las líneas de ajuste obtenidas mediante ambos modelos son diferentes y las razones son dos: 1) utilizamos, para estimar las frecuencias teóricas, los datos obtenidos de la bibliografía y no de las mediciones experimentales y 2) los modelos de Hartmann y Neimark utilizan supuestos diferentes para simplificar el cálculo.

Finalmente, se analizó la tasa de disparo y la relación con la frecuencia de estímulo. De manera similar que, en los casos de los RMS, en las frecuencias bajas la tasa de disparo aumenta con la frecuencia del estímulo, pero cuando alcanza una máxima (a una frecuencia similar a la resonancia), no se observa una caída, más aún, permanece relativamente constante a medida que la frecuencia del estímulo aumenta. Aunque ambas curvas RMS y Firing-Rate no son iguales, la frecuencia de resonancia ocurre en una zona de máxima tasa de disparo y, por lo tanto, de máxima sensibilidad.

## 5.5 Conclusiones parciales

En este trabajo estudiamos la respuesta en frecuencia del complejo seno folicular (sistema fisiológico) a través de los registros de actividad de su inervación principal. Este complejo, junto a una vibrisa (sistema mecánico), constituye un sensor capaz de obtener información táctil del entorno. Encontramos que, aunque todos los CSF son anatómicamente similares, funcionalmente son muy diferentes y cada uno está preparado para tener mayor sensibilidad para un estímulo de frecuencia específico, que a su vez está en sintonía con su vibrisa, cuya frecuencia de resonancia depende exclusivamente de sus características físicas.

La contribución de nuestro trabajo se relaciona con la teoría más aceptada, hasta el momento, sobre los posibles mecanismos de transducción del sistema vibrisal. La teoría de los slip-sticks propone que las vibrisas resuenan transitoriamente durante eventos discretos, de alta velocidad y de alta aceleración, y que ocurren de manera prominente durante el barrido sobre las superficies (Wolfe y cols., 2008). En ese sentido, es razonable afirmar que cada CSF pueda ser más sensible a una determinada frecuencia y evocar mayor actividad cuando se produce un evento de deslizamiento.

## Capítulo 6: Integración sensorial de la información táctil percibida por el sistema vibrisal de la rata para discriminar rugosidad

### 6.1 Introducción

Las ratas, así como muchos mamíferos, son capaces de interactuar con su entorno a través de sus vibrisas. En particular, estudios realizados anteriormente afirman que las ratas son capaces de aprender a discriminar superficies rugosas utilizando las vibrisas (Carvell y Simons, 1995, 1990; Guic-Robles y cols., 1989). Esta forma de censado induce patrones de activación temporal en el sistema nervioso, individuales para cada vibrisa, en los cuales está codificada la información sensorial (Arabzadeh y cols., 2006, 2005; Diamond y cols., 2008), es decir qué cada vibrisa individualmente tiene la capacidad de discriminar una superficie rugosa.

Sin embargo, aunque una vibrisa por si sola es capaz de discriminar diferentes superficies rugosas, las ratas disponen de una gran cantidad de ellas, de diferentes tamaños y posición. La almohadilla mistacial de las ratas (superficie cutánea donde se insertan las vibrisas en el rostro del animal), está conformado por macro-vibrisas y micro-vibrisas y está ubicado a ambos lados del rostro. Existen 24 macro-vibrisas que están dispuestas en forma matricial, formando cinco filas (A, B, C, D y E) y cuatro columnas (1, 2, 3 y 4). Para identificar cada una, se utilizan las coordenadas correspondientes a la fila y la columna en la que se encuentra la vibrisa (por ejemplo: vibrisa E2). Además, existe una quinta columna, ubicada posteriormente a la matriz, que está formada por cuatro vibrisas más (Alfa, Beta, Gamma y Delta) (Albarracín, 2008). Además, todas las vibrisas son de diferentes dimensiones tanto en longitud como en espesor.

Estudios individuales sobre las vibrisas determinaron que cada una de ellas es capaz de transmitir, a través de sus aferentes primarios, información táctil relacionada a las superficies. En el capítulo 5 se demostró que las vibrisas están preparadas para trabajar más eficientemente a una frecuencia de oscilación particular y dicha frecuencia depende de las características físicas de la misma. Ante esta evidencia es razonable pensar que ocurre lo mismo durante la discriminación de superficies rugosas y que cada vibrisa discrimina mejor distintos rangos de rugosidad (o aspectos de las superficies rugosas) obteniendo información particular que, integrada en el conjunto, proveerían información más completa para definir las superficies con mayor exactitud. Así, la rata utiliza estratégicamente cada vibrisa (o un grupo de ellas) según la situación en la que se encuentra.

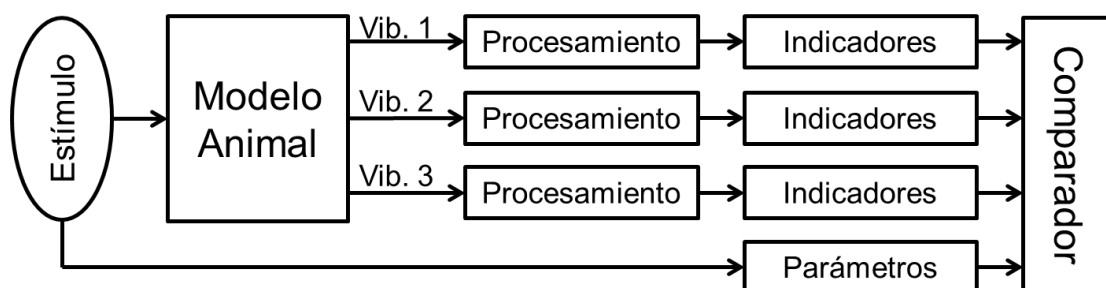
En este capítulo se propone un análisis que nos permite determinar si efectivamente existe una diferencia en la capacidad de discriminación de rugosidad entre las vibrisas y además se introduce un nuevo objetivo en el área de estudio: obtener mediciones relacionadas a la rugosidad

a partir de registros electrofisiológicos. Para esto, se realizaron registros electrofisiológicos en los nervios vibrisales aferentes del nervio infraorbitario mientras las vibrisas eran estimuladas con superficies de diferentes rugosidades, utilizando un protocolo similar al utilizado por Albarracín y cols., (2006). Luego a los registros obtenidos se los procesó y a los resultados se los compararon con los parámetros superficiales de los estímulos.

Se encontró evidencia de que cada vibrisa es capaz de discriminar mejor distintos rangos de rugosidad y dentro de estos rangos es posible obtener mediciones cualitativas de los parámetros superficiales a través de indicadores propuestos.

## 6.2 Protocolos de experimentación y análisis

Para el desarrollo de este trabajo se establecieron dos protocolos, uno experimental y uno de análisis. En la figura 6.1 se presenta un esquema que muestra las distintas etapas de ambos protocolos. En la parte experimental, los estímulos son aplicados al modelo animal y de este obtenemos señales electro-fisiológicas las cuales pertenecen a las respuestas de diferentes vibrisas. A estas señales se las procesó individualmente para luego poder calcular indicadores que identificarán las señales. Además, a las superficies de estímulo se les midieron sus parámetros superficiales típicos. Finalmente se comparó los indicadores calculados de cada vibrisa con los parámetros superficiales medidos.



**Figura 6.1:** Esquema experimental completo para determinar la existencia de integración sensorial en la discriminación de rugosidades.

### 6.2.1 Protocolo experimental

#### 6.2.1.1. Registros electrofisiológicos

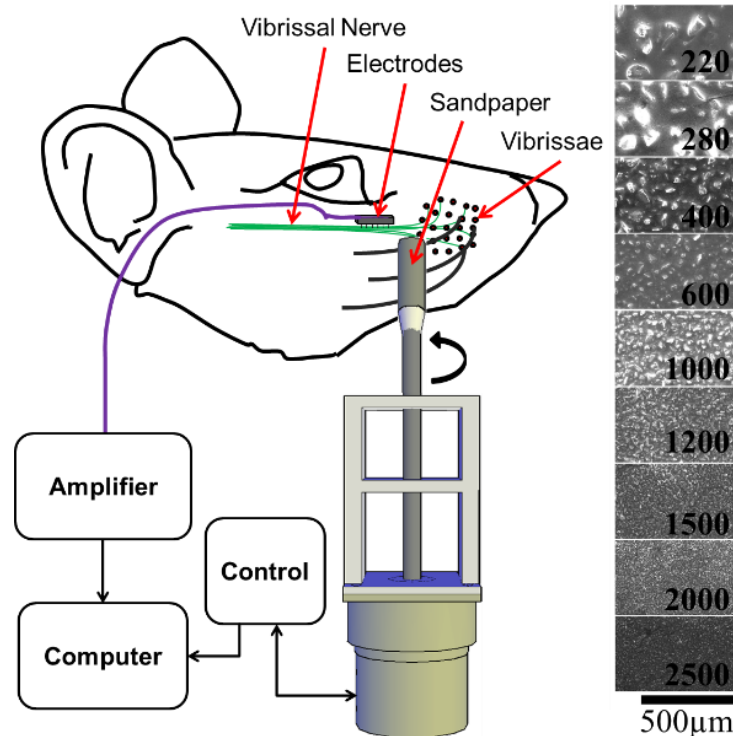
Se obtuvieron registros electrofisiológicos de nervios vibrisales de 5 ratas Wistar macho adultas con un peso entre 550-700g. Se les aplicó anestesia quirúrgica mediante clorprotixeno (1mg/Kg) y uretano (1,5g/Kg) y se les mantuvo la temperatura a 37°C mediante una camilla térmica servo-controlada. Todos los protocolos de cirugía utilizados, han sido descriptos anteriormente y en detalle por (Albarracín y cols., 2006). Un arreglo de electrodos tipo Utah fue

insertado en la superficie del nervio infraorbitario. Se utilizaron estímulos manuales en las todas las vibrisas para correlacionar las descargas de las fibras obtenidas en cada electrodo con la vibrisa correspondiente. El arreglo de electrodos tipo Utah está formado por 36 microelectrodos de tungsteno en una disposición 6 x 6, cubriendo una superficie de 2 x 2 mm<sup>2</sup> (espaciados 400µm). La actividad nerviosa fue registrada y digitalizada a 20 KHz (frecuencia de muestreo) con un amplificador MPA32I (Mutichannel Systems, MCS) y con un filtro tipo ranura de 50 Hz.

Todos los experimentos se llevaron a cabo en la Universidad Miguel Hernández conforme a las directivas 2010/63/EU del Parlamento Europeo y del Concejo, y las regulaciones españolas RD 53/2013 sobre protección del uso de animales para propósitos científicos.

#### 6.2.1.2. Estimulador mecánico

El estimulador mecánico se construyó con un eje giratorio, el cual se acoplada en un extremo a un rotor y en el otro extremo a rodillos de 8.5 mm de diámetro con 9 lijas de diferentes niveles de rugosidad (P220, P280, P400, P600, P1000, P1200, P1500, P2000, P2500). El rotor puede girar a tres velocidades diferentes que se regula a través de un circuito de control electrónico (Figura 6.2). Además, el sistema posee un sensor óptico para detectar el inicio del giro de 360° del eje, con su respectiva señal de trigger, la que se utiliza para sincronizar el estímulo con el registro.



**Figura 6.2:** Esquema del set experimental utilizado. Los rodillos de estímulos se pueden intercambiar sin mover el estimulador, permitiendo así realizar exactamente el mismo estímulo con todas las lijas.

Todas las lijas utilizadas como estímulo fueron caracterizadas mediante un rugosímetro Hommel Tester T1000, un instrumento portátil para medición de parámetros de rugosidad, ondulación y perfil, en producción o en laboratorio. Los parámetros elegidos corresponden a las características morfológicas superficiales más relevantes codificadas por el sistema vibrisal ( $R_q$ ,  $R_a$ ,  $R_p$ ,  $R_v$ ,  $R_t$  y  $R_{Sm}$ ). Para una descripción más precisa de este proceso, leer el apéndice A.

### 6.2.2 Procesamiento digital de la señal

El análisis de las señales nerviosas se realizó en 4 etapas. En la primera etapa se realizó la detección de los Potenciales de Campo Locales (o LFP por sus siglas en inglés) evocados por los estímulos. En la segunda etapa se construyó, para cada caso, una nueva señal con una resolución temporal de 1 ms (duración promedio de los LFP) y cuya amplitud es igual a cero cuando no ocurre un evento y donde ocurre un evento la señal toma el valor pico del mismo (línea azul de la figura 6.3).

Luego, en la tercera etapa se filtraron las señales construidas usando un filtro pasa-bajo elíptico con respuesta infinita al impulso (línea roja de la figura 6.3). Finalmente, el último paso consistió en encontrar patrones propios de la señal obtenida que nos brinden información relacionada a los estímulos y que resulten comparables con los parámetros superficiales medidos.

#### 6.2.2.1. Detección de eventos LFP

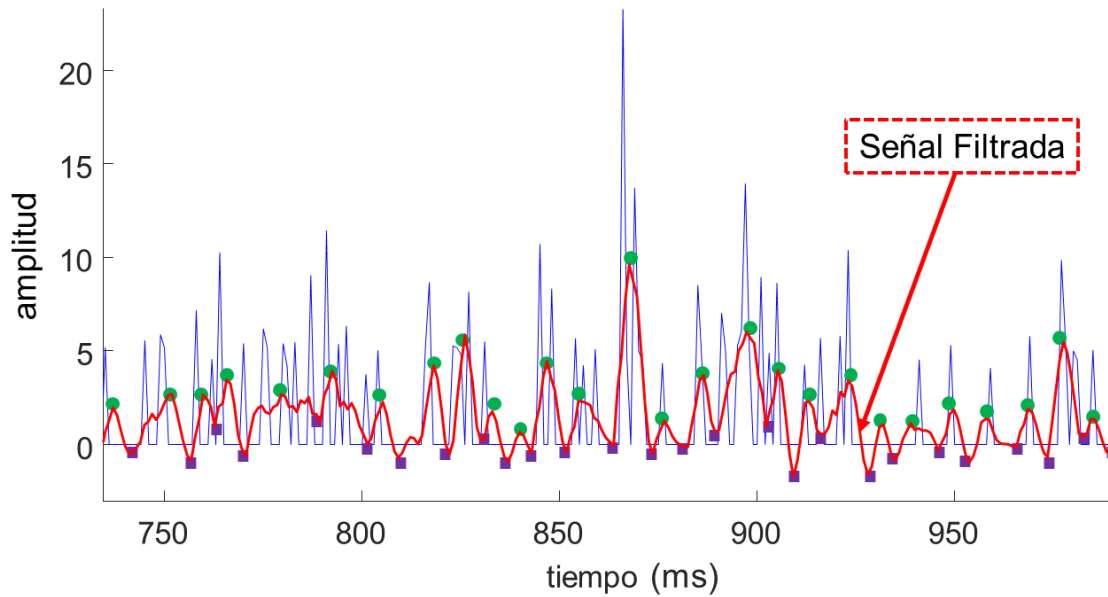
Para extraer los Potenciales de Campo Locales se utilizó una librería abierta de Matlab de detección y clasificación sin supervisión de eventos con clasificadores basados en wavelets y parámetros superparamagnéticos (Quiroga y cols., 2004).

En este trabajo y debido a la naturaleza de la señal, la detección fue configurada de manera tal que no clasifique o agrupe los LFP. Únicamente se utilizó la información correspondiente al tiempo donde ocurrían los eventos y la amplitud de los mismos.

#### 6.2.2.2. Señal ajustada en el tiempo

Varios estudios han encontrado que la resolución temporal del código neural está en una escala de milisegundos, indicando que el cronometraje preciso de los eventos es un elemento significativo en la codificación neural (Butts y cols., 2007). Debido a esto y para simplificar los cálculos, se construyó para cada caso una nueva señal de resolución temporal de un milisegundo en donde se eliminan todas las variaciones no significativas (ruido) y en el tiempo donde ocurre un evento, la señal adquiere el valor pico del mismo.





**Figura 6.3:** Esquema de construcción de la respuesta reajustada en el tiempo a eventos de 1 ms. En azul se presentan los potenciales de campo con sus respectivas amplitudes, en rojo la señal filtrada a ser analizada. Los puntos verdes representan los picos detectados y los puntos violetas representan los valles detectados.

#### 6.2.2.3. Filtrado y análisis de la señal

Con el fin eliminar los cambios bruscos de la nueva señal, se realizó un suavizado a través de filtros pasa-bajos tipo elíptico con respuestas al impulso infinita de orden 5. La frecuencia de corte de los filtros fue determinada por medio de un proceso iterativo y para cada una de las 3 vibrisas estudiadas.

Una vez filtradas las señales se procedió a determinar indicadores (Tabla 6.1) en la señal que se correlacionen con los parámetros de las superficies estímulo. Para esto se midieron los valores de raíz cuadrática media (RMS), Amplitud Media (AM), Amplitud Pico a Pico (PAP), distancia entre cruces por cero (DECC), Pico Máximo (PMa) y Pico Mínimo (PMi). Luego se comparó los indicadores estimados con los parámetros medidos en el apartado 6.2.1.2 y se establecieron las relaciones existentes entre ellos.

En la figura 6.3 se observa con puntos verdes los máximos y en violeta los mínimos de la señal obtenida.

| Indicador                              | Ecuación                                |
|----------------------------------------|-----------------------------------------|
| RMS (Raíz Cuadrática Media)            | $\sqrt{\frac{1}{L} \int_0^L Z(x)^2 dx}$ |
| AM (Pico a Pico)                       | $\frac{1}{L} \int_0^L  Z(x)  dx$        |
| PMi (Pico Mínimo)                      | $ máximo(Z(x)) $                        |
| PMa (Pico Máximo)                      | $ mínimo(Z(x)) $                        |
| PAP (Amplitud Pico a Pico)             | $PMa + PMi$                             |
| DECC (Distancia entre cruces por cero) | $\frac{1}{n} \sum_n \Delta[Z(x) = 0]$   |

**Tabla 6.1:** Ecuaciones para el cálculo de los indicadores propuestos.  $Z(x)$  es la señal obtenida después del filtrado.

### 6.3 Resultados

Al realizarse los registros durante el protocolo planificado, se observaron señales en 4 electrodos del arreglo. Se verificó que tres de estos electrodos registraban señales pertenecientes (exclusivamente) a las vibrisas D3, E4 y D5. El cuarto electrodo registraba señales de varias vibrisas al mismo tiempo por lo que tuvo que ser descartado. Todos los estímulos se repitieron 9 veces y en el mismo orden durante el experimento.

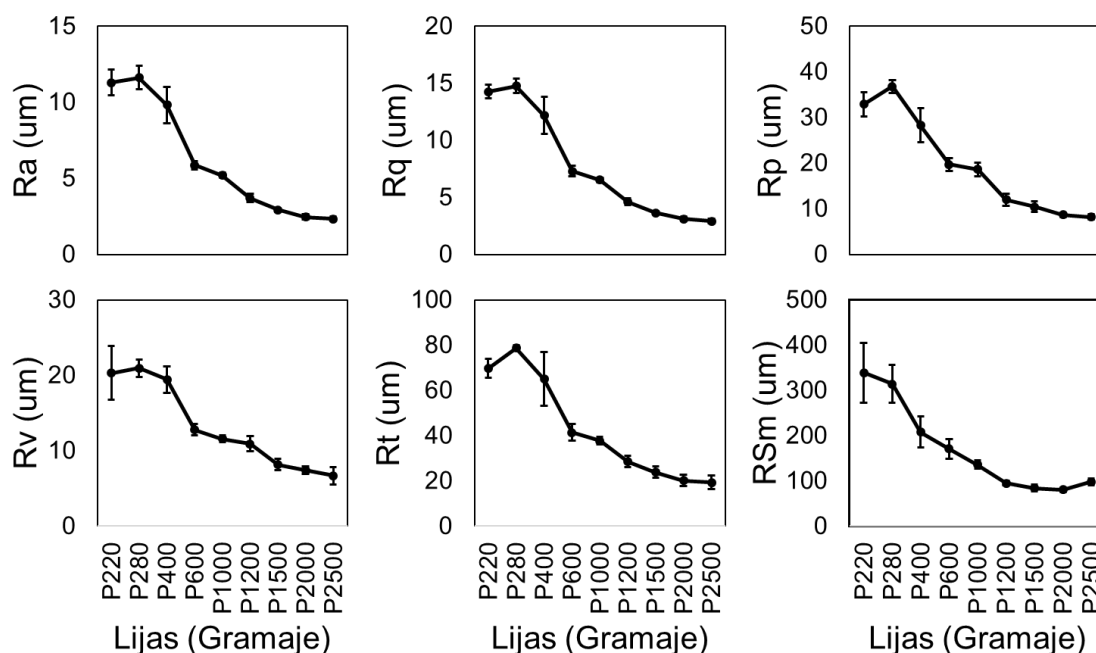
Por otro lado, al construir las señales ajustadas temporalmente con una resolución de 1 ms, también limitamos la resolución espacial del sistema. Es decir, si la circunferencia del rodillo es de  $l = 12,06 \text{ mm}$ , entonces: para la velocidad 1 ( $v1 = 5,1 \mu\text{m/ms}$ ), la más lenta, la resolución espacial de la señal es de  $\Delta d1 = 5,1 \mu\text{m}$ ; para la velocidad 2 ( $v2 = 10,4 \mu\text{m/ms}$ ) corresponde una resolución espacial de  $\Delta d2 = 10,4 \mu\text{m}$  y para la velocidad 3 ( $v3 = 14,6 \mu\text{m/ms}$ ), la más rápida, la resolución es de  $\Delta d3 = 14,6 \mu\text{m}$ . Debido a esto y por cuestiones prácticas, sólo se estudiaron los resultados correspondientes a los estímulos a menor velocidad y por lo tanto, mejor resolución ( $v1$ ).

La frecuencia de corte normalizada ( $W_{CN}$ ) utilizada en el filtro pasa-bajo para la obtención de los resultados presentados fue 0,06.

#### 6.3.1 Parámetros superficiales

Los parámetros superficiales medidos por el rugosímetro se ajustan a la norma ASME B46.1 – 2009 de Estados Unidos, que establece criterios de medición de rugosidad en superficies. Particularmente, se han tenido en cuenta 5 parámetros de altura ( $Rq$ ,  $Ra$ ,  $Rp$ ,  $Rv$  y  $Rt$ ) y un parámetro de distancia ( $RSm$ ). Ver Apéndice A.

En la figura 6.4 se presentan los valores de todos los parámetros medidos correspondiente a las lijas de gramaje P220, P280, P400, P600, P1000, P1200, P1500, P2000, P2500. En todos los casos, la medición se repitió 5 veces.



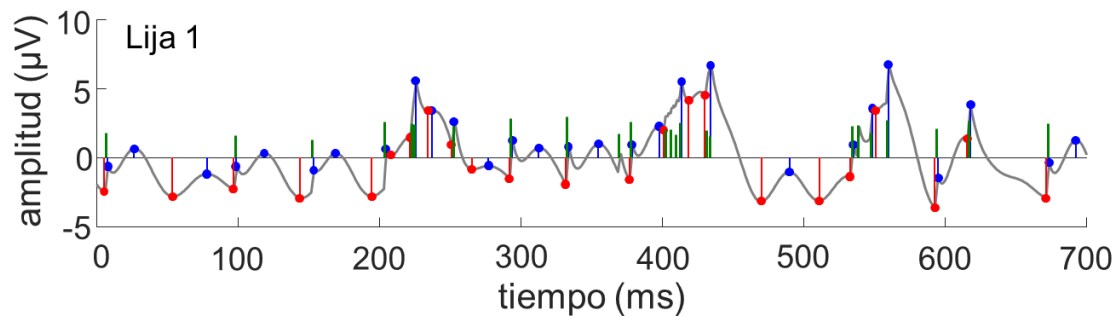
**Figura 6.4:** Parámetros medidos con rugosímetro Hommel Tester T1000 en las 9 lijas estímulo.

Se observa que tanto los parámetros de altura como el parámetro de distancia disminuyen desde la lija más rugosa (P220) a la más menos rugosa (P2500). Estos resultados están dentro de lo esperable considerando que las lijas están construidas en base a una superficie de granos los cuales son más pequeños a medida que disminuye la rugosidad. Además, es notoria la similitud de la forma de las curvas obtenidas que muestran una variabilidad muy débil entre las primeras tres lijas, seguido de un salto entre las lijas P400 y P600 y continua con un suave y lineal descenso desde la lija P600 hasta P2500.

### 6.3.2 Indicadores experimentales

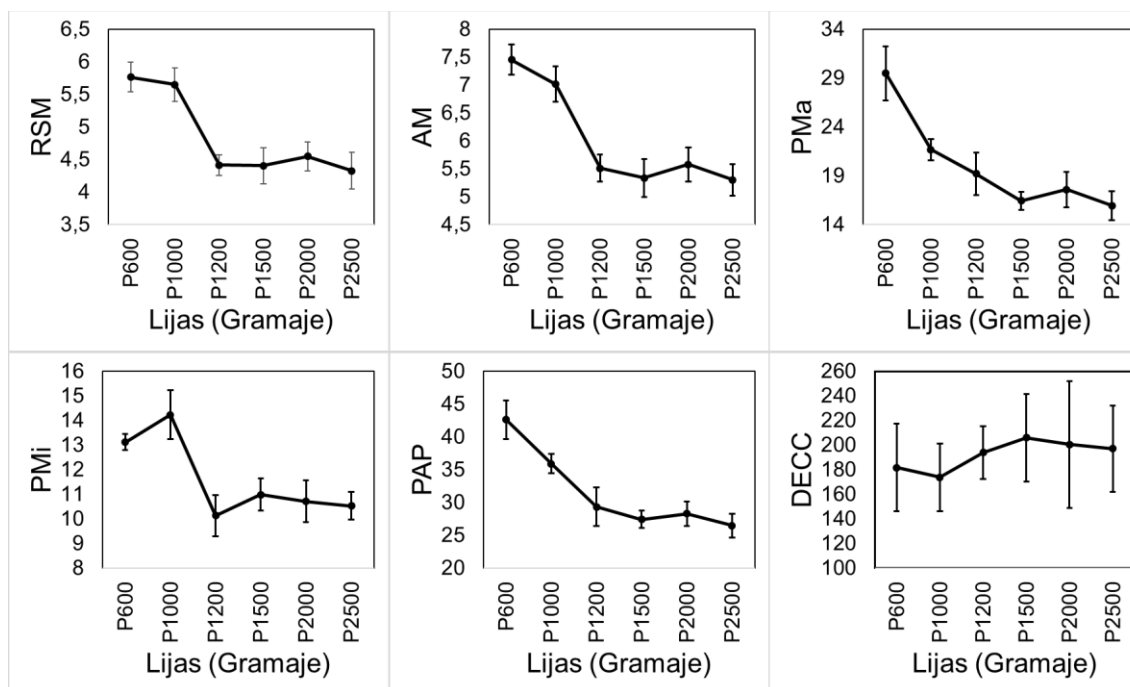
Las señales obtenidas en los registros electrofisiológicos realizados fueron filtradas con un filtro pasa-altos de 30 Hz para eliminar la deriva de la señal. Realizando el reajuste temporal a 1 ms de tiempo de muestreo (líneas verdes en la figura 6.5) y mediante el filtrado mencionado en el punto 6.2.2.3 de los eventos detectados, se obtuvo una curva de respuesta al estímulo (línea gris en la figura 6.5). Luego, con el uso de un algoritmo de detección automática de máximos en una función -Copyright 2007-2015 The MathWorks-, se determinaron los picos y los valles de las curvas (líneas azules y rojas de la figura 6.5 respectivamente).

A partir de la curva de respuesta, de los datos acerca de los picos y los valles y aplicando las ecuaciones de la Tabla 6.1, se obtuvieron los indicadores propuestos en el punto 6.2.2.3.



**Figura 6.5:** Señal reconstruida (línea gris) desde los eventos discretos detectados en los registros electrofisiológicos (línea verde). En azul los picos detectados, en rojo los valles detectados.

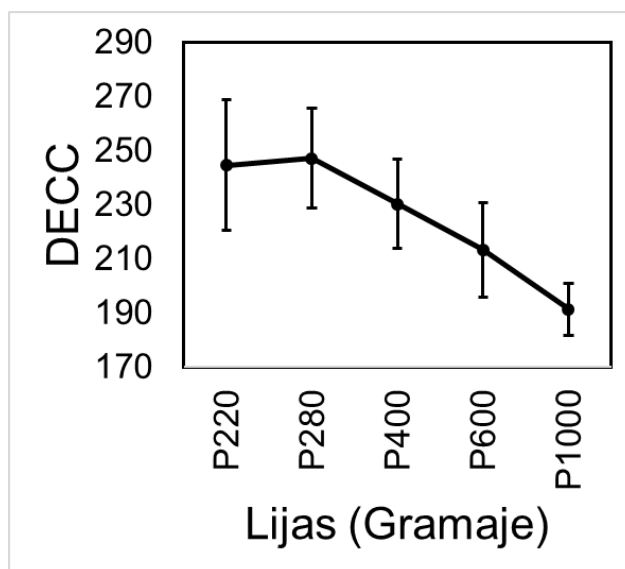
En la figura 6.6 se presentan los indicadores obtenidos a partir de los registros realizados en la vibrisa E4. Se puede observar que los indicadores de amplitud (RMS, AM, PMa, PMi y PAP) tienen un comportamiento decreciente en la medida que aumenta el gramaje de las lijas de estímulo desde P600 a P2500. Esta relación es similar a la obtenida de las mediciones con el rugosímetro comercial. Sin embargo, el indicador de distancia propuesto (DECC) no presenta ningún comportamiento definido y es imposible diferenciar una respuesta de otra. Los resultados de las lijas restantes (desde P220 a P400) no respetan esta relación.



**Figura 6.6:** Indicadores estimados desde los registros de la vibrisa E4 para los estímulos P600 a P2500.

En el caso del análisis de los registros de la vibrisa D3, ocurre lo opuesto. Los indicadores de amplitud calculados no presentan ningún comportamiento definido (resultados no presentados). En cambio, el indicador de distancia presenta un comportamiento descendente conforme aumenta el gramaje del estímulo desde P220 a P1000, de la misma forma que la

observada en la medición con el rugosímetro. Los resultados de las lijas restantes (desde P1200 a P2500) no respetan esta relación.



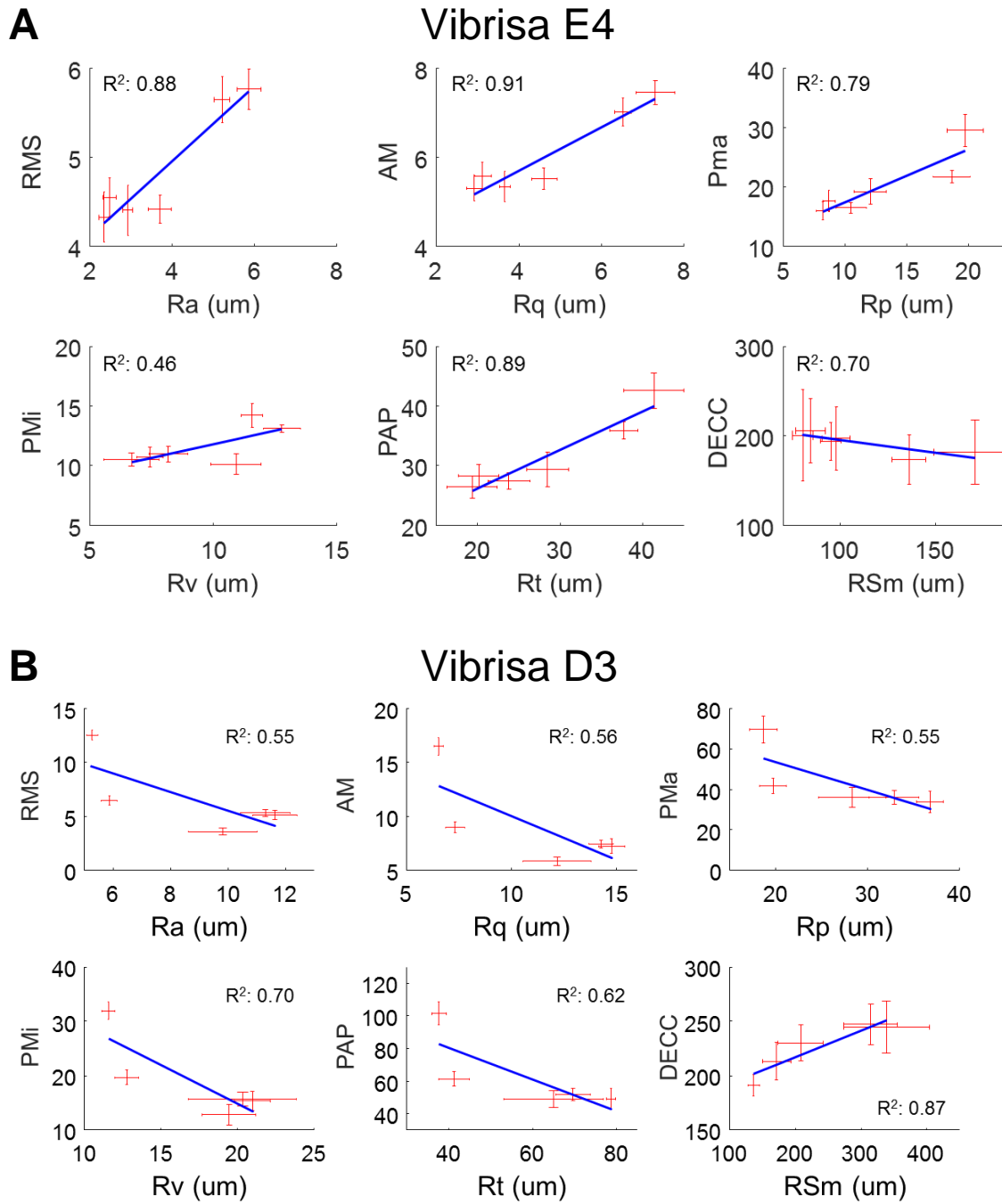
**Figura 6.7:** Indicador DECC estimado desde los registros de la vibrisa D3 para los estímulos P220 a P1000.

### 6.3.3 Correlación entre los parámetros superficiales y los indicadores obtenidos

Al correlacionar los valores presentados en los puntos 6.3.1 y 6.3.2 se encontró que los parámetros de altura medidos se correlacionan mejor con los indicadores de amplitud obtenidos de la vibrisa E4 para los estímulos entre P600 y P2500. Para la vibrisa D3 también se obtiene un buen ajuste al correlacionar el indicador de distancia DECC con el parámetro de distancia RSm de las lijas P220 a P1000 (Figura 6.7).

En la figura 6.8A se comparan los parámetros y los indicadores de la vibrisa E4 correspondientes a las lijas P600 a P2500. Se observa que en este rango la vibrisa E4 tiene un grado de ajuste alto para casi todos los parámetros de altura, alcanzando en el mejor de los casos un  $R^2 = 0,91$  (Rq vs. AM). Los indicadores de amplitud obtenidos de las vibrisas D3 y D5 no se correlacionan significativamente con los parámetros de amplitud medidos.

En el diagrama de dispersión de la figura 6.8B se comparan los parámetros y los indicadores de la vibrisa D3 correspondientes a las lijas P220 a P1000. En este caso, la vibrisa D3 se destaca por su gran ajuste con el parámetro de distancia alcanzando un ajuste de  $R^2 = 0,87$ . En contraste con el caso anterior, los indicadores de amplitud presentan correlaciones débiles o no se correlacionan en absoluto con los parámetros de altura. Los indicadores obtenidos a partir de los registros de las vibrisas D5 y E4 no ajustan significativamente con el parámetro de distancia estudiado.



**Figura 6.8:** Diagramas de dispersión de parámetros medidos vs indicadores calculados a partir de los registros electrofisiológicos. **A)** Parámetros vs indicadores correspondientes a la vibrisa E4. **B)** Parámetros vs indicadores correspondientes a la vibrisa D3.

## 6.4 Discusiones

Existen estudios que exploraron la existencia de un código neural en la actividad aferente de los nervios vibrisales y que demostraron que es posible diferenciar dos estímulos de diferente rugosidad utilizando registros electro-fisiológicos obtenidos en dichos nervios (Albarracín y cols., 2006; Farfán y cols., 2007; Lucianna y cols., 2016b). Farfán y cols., (2013) encontraron que la información de rugosidad puede estar codificada en eventos de entre 0,8 y 1 ms.

En el capítulo anterior se mostraron evidencias de que cada folículo (y cada vibrisa) estaría preparado para tener mayor sensibilidad a un estímulo de frecuencia específica. Además, se observó que para estímulos cuyas frecuencias están por debajo de su frecuencia de mayor sensibilidad, la respuesta electrofisiológica del complejo seno-folicular es lineal. Además, dicha frecuencia está relacionada directamente con las características morfológicas de la vibrisa correspondiente.

Sin embargo, todos estos estudios se realizaron estimulando vibrisas individuales y no consideran posibles interacciones que puedan existir entre todas las vibrisas del sistema. Por lo tanto, tiene gran importancia abordar estudio de la integración sensorial de la información táctil percibida por el sistema vibrisal de la rata para discriminar rugosidad.

En los resultados de la figura 6.4 se ha destacado la similitud entre las curvas de todos los parámetros. Esto se debe a la naturaleza de las superficies usadas, en las que todos los parámetros, si bien representan una particularidad específica del perfil de la superficie, están todos relacionados al tamaño del grano por el que está formada. Para lijas más gruesas, los granos son de mayor tamaño y por lo tanto tienen picos de mayor altura que en las lijas menos rugosas y granos más pequeños. Lo mismo sucede con los parámetros de distancia en los que los granos de mayor tamaño tienen los bordes más alejados comparados con granos pequeños.

En este sentido, ocurre lo mismo en los resultados obtenidos con los indicadores propuestos. Si observamos la figura 6.6 y comparamos las curvas de los diferentes parámetros, podemos constatar que tienen la misma forma. Esto nos demuestra que, aunque no tengan un comportamiento lineal para las 9 lijas como en el caso de los parámetros medidos, los indicadores están igualmente relacionados entre sí.

Como fue aclarado anteriormente, los resultados de E4 fueron obtenidos utilizando un filtro con una frecuencia normalizada de corte igual a 0,06. En el caso de la vibrisa D3, para obtener resultados cuyos indicadores se correlacionen con las lijas estímulo, fue necesario utilizar una frecuencia normalizada de corte igual a 0,2. Esta diferencia se atribuye a que, como vimos en el capítulo anterior, cada vibrisa tiene una frecuencia de trabajo óptima diferente y por lo tanto la información está codificada en otra zona del espectro de frecuencias.

Al comparar ambas curvas de la figura 6.7 (parámetros vs indicadores) se observa que los indicadores obtenidos para la vibrisa D3 que mejor se correlacionan son los de distancia (con los parámetros de distancia) de las lijas P220 a P1000 mientras que, los indicadores obtenidos para la vibrisa E4 se correlacionan mejor con los parámetros de altura de las lijas P600 a P2500. Estos resultados sugieren cierta capacidad del sistema sensorial a integrar la información proveniente de todos los sensores (vibrisas). Cada vibrisa estudiada presenta afinidad a cierto rango de trabajo y a una característica diferente, que se complementaría para brindar información más completa acerca de las superficies.

Además, tanto en el caso de los indicadores de amplitud de la vibrisa E4 como en el indicador de distancia de la vibrisa D3, las pendientes de las rectas de ajuste son positivas y cercanas a 1 (en el rango estudiado). Esto permite pensar que sería posible inferir los parámetros superficiales de los estímulos (previa calibración) a partir de un registro electro-fisiológico.

Finalmente, si bien en los resultados obtenidos desde la vibrisa D5 no se encontraron correlaciones entre los indicadores y los parámetros estudiados, esto no significa que esta vibrisa no contenga información de la superficie. Quizás contenga información complementaria que no está siendo considerada en estos estudios o que las superficies estudiadas estén fuera de su rango de trabajo óptimo.

## 6.5 Conclusiones parciales

En este capítulo se propuso un análisis para determinar si efectivamente existe una diferencia en la capacidad de discriminación de rugosidad entre las vibrisas y además se introduce un nuevo objetivo en el área de estudio: obtener mediciones relacionadas a la rugosidad a partir de registros electro-fisiológicos.

Se realizaron registros electrofisiológicos en los nervios vibrisales aferentes del nervio infraorbitario mientras las vibrisas eran estimuladas con superficies de diferentes rugosidades. Al procesar los resultados se descubrió evidencia que permite sugerir que cada vibrisa es capaz de discriminar mejor distintos rangos de rugosidad y dentro de estos rangos es posible obtener mediciones cualitativas (o cuantitativas en algunos casos) de los parámetros superficiales a través de indicadores propuestos.



## Capítulo 7: Implementación práctica del sistema sensorial vibrisal de la rata

### 7.1 Perfilómetros

Hay dos clases de perfilómetros: de contacto y sin contacto. Los perfilómetros de contacto (figura 7.1A) son equipos electrónicos que permiten medir el perfil de una superficie mediante una tecnología muy similar a la de un tocadiscos. El contacto de un pin captador transmite las irregularidades superficiales detectadas a un amplificador, a la vez que determina los diferentes parámetros de la superficie, la planitud y el perfil. Esta medida apretada ilustra fácilmente la diferencia de los objetos que se ven o se sienten similares al tacto directo de un operario. Los perfilómetros de contacto tienen muchas ventajas, pero, generalmente, son difíciles de utilizar directamente sobre la superficie que está siendo examinada en el campo de trabajo y se limitan a utilizar en muestras, ya que es necesario ajustarse debajo del pin de lectura.

**A**



**B**



**Figura 7.1:** Perfilómetros comerciales INTERCOVAMEX KLA Tecnor. A) Perfilómetro de contacto D-100; B) Perfilómetro óptico (sin contacto) MicroXAM-100.

Un perfilómetro sin contacto (figura 7.1B) utiliza rayos de luz para leer una superficie. Estos disparan un rayo y miden el tiempo que tarda en volver. Esta tecnología tiene la ventaja sobre la versión de contacto en que algunos modelos funcionan fácilmente en el campo, ya que debe colocarse sobre una superficie a medir y esta no sufre casi ningún desgaste. Sin embargo, son equipos más lentos y costosos.

Mientras que un perfilómetro es común en muchos campos, uno de sus principales usos es la medición de la rugosidad de las superficies.

## 7.2 Campos de aplicación: Industria y salud.

En algunos casos se busca que la superficie de un producto terminado presente un mínimo de rugosidad ya que esto le da brillo, mejor apariencia y disminuye la fricción de la superficie al estar en contacto con otra, reduciendo así el desgaste y la corrosión o erosión de dichos materiales (Hinijosa Rivera y Reyes Melo, 2001).

Por otra parte, la fricción entre dos superficies es lo que permite sujetar un objeto sin que este se resbale. Es la rugosidad de los neumáticos de los automóviles lo que favorece la fricción entre ellos y el suelo. Por ello, en la industria automotriz, se utilizan perfilómetros para obtener información acerca del estado de los neumáticos y los sistemas de accionamiento, asegurando que un coche proporcione la máxima potencia y agarre en una variedad de condiciones de la carretera.

En ocasiones, se busca maximizar el área superficial, lo que se consigue incrementando la rugosidad, como en el caso de los catalizadores de superficie cuya eficiencia es mejor cuanto mayor sea la superficie de contacto con los reactivos. Es la rugosidad de los acetatos lo que determina si pueden usarse en una impresora láser o en impresoras de inyección de tinta.

La rugosidad también es un factor biológico, ya que a escala molecular afecta el modo en que las bacterias se adhieren a las superficies. Los materiales dentales deben tener una superficie con la mínima rugosidad posible para evitar la acumulación de placa bacteriana y para conseguir un mejor efecto estético.

Otro uso de los perfilómetros es como un escáner 3D. Se ha encontrado una aplicación insustituible en el control dimensional de fabricación de componentes que requieren tolerancias muy estrictas, como álabes de turbina, mecanizados de alta precisión, estampación y matricería. Las piezas se escanean y se compara con el modelo teórico, permitiendo un control muy minucioso sobre la producción.

A pesar de la importancia de la rugosidad en la industria y en la salud, generalmente se realizan mediciones subjetivas de la misma lo que conduce a realizar trabajos o productos de baja calidad. Esto sucede principalmente por los costos que conlleva el uso de estos equipos y la complejidad de su uso.

## 7.3 Tecnologías inspiradas en el sistema sensorial de la rata.

Mientras que la visión proporciona información sobre objetos distantes, el tacto es de gran valor para detectar el entorno cercano. Sin embargo, al diseñar máquinas inteligentes, similares a la vida real, como los robots, el sentido táctil se ha pasado por alto en gran medida. Los sistemas actuales solo hacen un uso limitado de los sensores táctiles para tareas simples como la detección del contacto físico o la medición de fuerzas de agarre. La biología, por el contrario, revela un uso abundante de la detección táctil en el reino animal. De hecho, en las criaturas nocturnas, o aquellas que habitan en lugares poco iluminados, el tacto es ampliamente preferido

a la visión como un medio principal para descubrir el mundo. Los sentidos táctiles de muchos mamíferos se construyen alrededor de conjuntos de vellos faciales conocidos como "bigotes" o "vibrisas".

Este es el caso de las ratas, que son capaces de lograr discriminaciones muy precisas de superficies rugosas a través del uso de sus vibrisas. Por esta razón, son el medio de inspiración ideal para desarrollar nuevos sensores táctiles. Tal es así, que hoy en día algunos autores han desarrollado "bigotes" artificiales de distintos materiales y dimensiones los cuales se adosan a sensores que detectan los movimientos de los mismos y transducen la información a señales eléctricas. Así, se lograron construir dispositivos capaces de localizar y reconocer objetos utilizando solo el tacto, aunque siempre en niveles macroscópicos.

Esta tesis pretende avanzar en la implementación tecnológica de los sistemas tratados anteriormente, enfocados principalmente en la industria. Haciendo uso de las herramientas para el cálculo de información y discriminación propuestas en el capítulo 3, el modelo presentado en el capítulo 4 y considerando las propiedades del sistema vibrisal demostradas en los capítulos 5 y 6, se propondrán nuevas tecnologías con nuevos usos y áreas de aplicación.

### 7.3.1 Implementaciones tecnológicas actuales

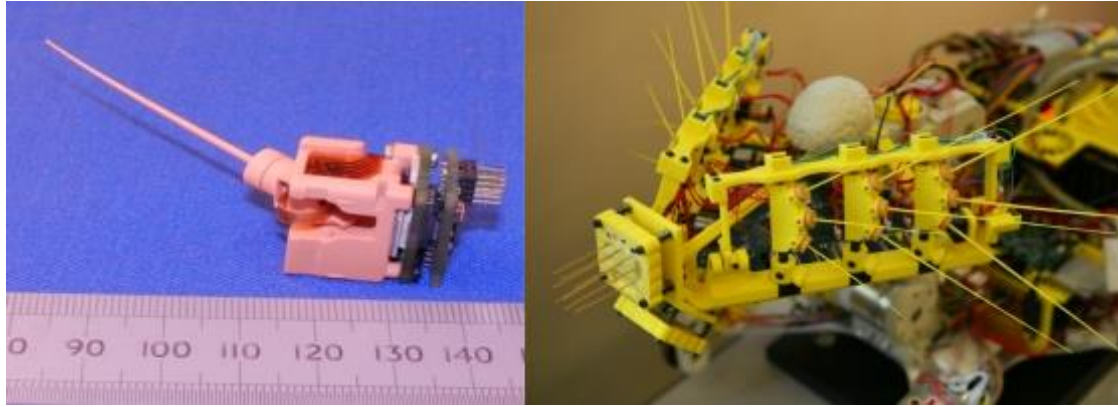
Para el desarrollo de sistemas bioinspirados en el sistema vibrisal es necesario involucrar el estudio de materiales -con el que se construyen las vibrisas artificiales- y el análisis de la disposición espacial de las vibrisas (Bovet y cols., 2004; Fend y cols., 2004). En algunos sistemas de monitoreo táctil artificiales, el movimiento de cada una de las vibrisas -artificiales- se mide mediante sensores de flexión (Schultz y cols., 2005). La discriminación táctil, en estos casos, se realiza mediante mediciones de deflexión, fuerza y amplitud de la vibrisa.

Las tecnologías experimentales desarrolladas en la actualidad, a partir de estudios realizados en el sistema táctil de la rata, se basan en la construcción de vibrisas artificiales de distintos materiales y tamaños. Estas se adosan a sensores que transforman el movimiento de las vibrisas en señales eléctricas para luego analizarlas y obtener las mediciones correspondientes.

El "Whiskerbot" desarrollado en el laboratorio de robótica de la Universidad de Bristol ("Bristol Robotics Laboratory," 2003) es un sistema biomimético que posee la capacidad de reconocer objetos a través de sus vibrisas artificiales. El proyecto consiste en montar una serie de vibrisas artificiales controladas activamente en un robot móvil generando datos de entrada que luego se ingresan a modelos computacionales de las vías sensoriomotoras neuronales del cerebro de la rata.

Otra tecnología desarrollada por el mismo laboratorio es la ("BIOmimetic Technology for vibrissal ACTive Touch," 2009), también basada en el tacto vibrisal activo. Esta tecnología puede utilizarse para reemplazar o complementar otros sistemas sensoriales tales como la visión artificial y así mejorar la capacidad sensorial de estos sistemas. Pearson et al., (2011) propusieron

incorporar las vibrisas a diferentes plataformas y utilizar las estrategias de control motor y exploración de los roedores para maximizar la calidad y la cantidad de información sensorial que puedan ofrecer las vibrisas artificiales. Abajo, en la figura 7.2 se presenta el sistema desarrollado por este grupo de trabajo donde podemos observar la gran similitud del robot construido con el hocico de un roedor.



**Figura 7.2:** Robot biomimético desarrollado por el Laboratorio de Robótica de la Universidad de Bristol. A la izquierda: vibrisa artificial aislada, montada en su correspondiente soporte con sensores. A la derecha, plataforma biomimética con un arreglo de vibrisas artificiales montado. Imagen adaptada de (Pearson y cols., 2011).

Estas tecnologías inspiradas por la morfología y el código neural de las vibrisas de la rata permiten, entre otras cosas:

- Maximizar la información útil.
- Realizar tareas perceptivas como la determinación de la posición y la forma de la superficie de los objetos encontrados.
- Codificar memorias táctiles que permiten el reconocimiento de elementos familiares y
- Rastrear y capturar objetos usando solo señales táctiles.

### 7.3.2 Innovación tecnológica

Los dispositivos biomiméticos presentados anteriormente, si bien son capaces de distinguir y reconocer objetos utilizando el tacto e incluso de discriminar distintos tipos de materiales, no poseen la capacidad registrar los perfiles de las superficies (como lo hacen los perfilómetros) y por lo tanto tampoco pueden medir los parámetros micrométricos de las superficies.

Sin embargo, si nos remitimos a los capítulos 5 y 6, vemos que la información acerca de los parámetros micrométricos de las superficies está presente en los registros, que dichos parámetros son perfectamente medibles y que también, si utilizamos las vibrisas adecuadas, es posible estimar un perfil estadísticamente equivalente al perfil real de las superficies medidas.

De esta manera, se propone diseñar un sistema artificial compuesto por un arreglo de vibrisas artificiales a las cuales se les adhiere sensores de movimiento. Estos deben entregar las

señales eléctricas que serán analizadas análogamente al análisis realizado anteriormente sobre las señales biológicas. A continuación, se explicará en detalle cada etapa de la propuesta.

#### *7.3.2.1 Vibrisa artificial*

Para construir una vibrisa artificial es importante cumplir ciertos requisitos. Se debe utilizar un material flexible, resistente al desgaste, económico (para que sea fácilmente reemplazable) y de fácil manipulación. El níquel, por ejemplo, es un material que cumple con estos requisitos y es fácil de adquirir en formato de cuerdas y en distintos calibres.

Luego, usando las vibrisas reales como referencia, se pueden construir pseudo-vibrisas de diámetros y longitudes adecuadas.

#### *7.3.2.2 Sensor de movimiento*

Lucianna et al., (2016a) comenta que el movimiento de las vibrisas, cuando estas se desplazan sobre una superficie rugosa, ocurre en dos direcciones (longitudinal y transversal al desplazamiento). Por este motivo, el sensor necesario para registrar el movimiento de las vibrisas debe satisfacer esta necesidad. En el mercado actual existen sensores de aceleración que permiten, en un solo *chip*, medir la aceleración de un objeto en dos direcciones (vertical y horizontal). Esto los convierte en un candidato ideal para realizar las mediciones.

Otra exigencia que deben cumplir los sensores de movimiento es el ancho de banda. Como vimos en el capítulo 5, las vibrisas tienen una frecuencia de trabajo alrededor de su frecuencia de resonancia. Entonces el ancho de banda del sensor de movimiento deberá ser elegido según las dimensiones de la vibrisa en la que se esté trabajando. Esto está en concordancia con las conclusiones que se aportaron en el capítulo 5, en el que se sugiere que cada folículo vibrisal está en sintonía con su correspondiente vibrisa.

#### *7.3.2.3 Arreglo vibrisal*

De acuerdo a los resultados mostrados en los capítulos anteriores, cada vibrisa sería capaz de reconocer un rango diferente de los parámetros superficiales. Esto podría explicar que los roedores cuenten con un arreglo vibrisal comprendido por decenas de vibrisas de diversas medidas pudiendo así abarcar un mayor rango de medición.

En este sentido, un sensor debería tener un arreglo de vibrisa que se adecue a las mediciones que se quieran realizar. Si el número de vibrisas utilizado es bajo, nuestro rango de medición será pequeño y en cambio, si el número de vibrisas es alto, tendremos un rango de medición grande. Para lograr mayor eficiencia, sería necesario determinar previamente el rango de trabajo de manera que prestaciones del sistema no sean deficientes, dejándolo inutilizable, o que no se exceda, aumentando innecesariamente los costos.

#### *7.3.2.4 Adquisición y análisis de la señal*

Para adquirir y almacenar las señales de los acelerómetros es necesario contar con una placa de adquisición cuyas características dependerán de la cantidad de vibrisas (o acelerómetros) que se utilicen y el ancho de banda de cada uno. El sistema de adquisición deberá tener una frecuencia de muestreo, por canal, de al menos 5 veces mayor que la mayor de las frecuencias de trabajo de los acelerómetros utilizados. En cuanto a los requisitos de amplitud, la mayoría de los sistemas de adquisición actuales cuentan con al menos 8 bits de resolución, la cual es suficiente para el sistema propuesto.

Una vez adquirida la señal, es necesario determinar cuál de todas las vibrisas del sistema realiza una mejor medición de la superficie desconocida. Para esto, se utilizarán las herramientas propuestas en el capítulo 3 que nos permiten determinar la cantidad de información disponible en las diferentes señales comparadas con una señal de referencia. Entonces, la señal con mayor cantidad de información disponible deberá ser procesada para la medición.

El procesamiento de la señal mecánica obtenida está inspirado en el procesamiento realizado a los registros biológicos. Primero es necesario detectar los picos de aceleración que son consecuencia de los eventos slip-stick ocurridos durante el barrido. Estos picos (eventos) tendrán diferentes amplitudes medias según la superficie que se esté estudiando. Una vez identificados los eventos con sus respectivas amplitudes, el cálculo de los parámetros y la estimación del perfil, se realiza con el mismo análisis realizado en el capítulo 6.

Como en todo instrumento de medición, para poder hacer mediciones de los parámetros primero se debe calibrar el sistema con el uso de patrones.

#### *7.3.3 Ventajas y desventajas*

La implementación de tecnología biomimética a la metrología de superficies presentaría una serie de ventajas sobre las tecnologías actuales. Una de las más importantes es la posibilidad de realizar mediciones directamente en el campo de trabajo, es decir, sobre la superficie que está siendo examinada o a utilizar en muestras. Además, a diferencia de los perfilómetros de contacto comerciales, una vibrisa artificial es mucho más robusta y resistente a golpes que un pin captador de diamante y esto ofrece mayor tolerancia al transporte del equipo. Por último, los sensores utilizados en la tecnología propuesta tienen un valor económico muy bajo y, por lo tanto, bajos costos de mantenimiento.

En cuanto a las desventajas, el sistema propuesto no es capaz de medir el perfil real de la superficie, en cambio, calcula un perfil estadísticamente equivalente al real. Por otro lado, el tiempo de procesamiento de datos de este sistema son mayores que el de los equipos comerciales actuales.

## 7.4 Conclusiones parciales

En el presente capítulo, utilizando como base los estudios realizados en el transcurso de la tesis, analizando las tecnologías existentes y las necesidades actuales, se propone una implementación práctica del sistema vibrilal tátil de la rata en el campo de la metrología de superficies. La propuesta detalla la construcción y uso de vibrilas artificiales, sensores de movimiento y propone el método de procesamiento necesario para medir los parámetros superficiales.

Los criterios utilizados demuestran que es posible realizar transferencia tecnológica hacia la industria a partir de los conocimientos básicos adquiridos desde un sistema biológico como el de la rata. Esto está en concordancia con las políticas actuales del Sistema Científico Tecnológico Nacional que fomenta la búsqueda soluciones tecnológicas en instituciones de ciencia y tecnología para luego transferir los desarrollos logrados a empresas y organizaciones de diversas índoles.

## Capítulo 8: Conclusiones finales

En esta tesis se planteó el estudio, evaluación e implementación de modelos teóricos/experimentales que permitieron revelar y caracterizar los códigos neuronales involucrados en la integración sensorial de la información táctil percibida por el sistema vibrisal de la rata. Estos estudios están orientados, finalmente al diseño y desarrollo de tecnologías que imiten el comportamiento de sistemas biológicos (biomimética)

Primero se propusieron medidas de discriminabilidad para investigar la discriminación de texturas por medio de las características tiempo-frecuencia de los registros aferentes del nervio vibrisal. Las medidas de discriminabilidad permitieron determinar los intervalos de tiempo donde dos situaciones experimentales tienen una mayor probabilidad de ser diferenciadas una de la otra.

Para poder interpretar los resultados correctamente, fue necesario analizar y definir los parámetros morfológicos superficiales más relevantes en la codificación neuronal de la información táctil.

Se propuso un modelo que, de manera cualitativa y cuantitativa, representa las características más relevantes de la conducción nerviosa en fibras mielínicas. Sus importantes características de simplicidad, versatilidad y robustez, fueron aprovechadas durante la experimentación científica de este trabajo para interpretar y evaluar los resultados obtenidos en los experimentos en animales.

Por otro lado, se estudió la respuesta en frecuencia del complejo seno folicular. Se relacionó este hallazgo con la teoría más aceptada sobre posibles mecanismos de transducción (donde se propone que las vibrisas resuenan transitoriamente durante eventos discretos) y se determinó un rango espectral donde cada FSC es más sensible y, por lo tanto, evoca más actividad cuando se produce un evento de desplazamiento.

Otro aporte significativo de esta investigación, fue la cuantificación de información táctil. Para ello, se propuso un método de reconstrucción de estímulo que permitió demostrar que cada vibrisa es capaz de discriminar mejor distintos rangos de rugosidad y dentro de estos rangos es posible obtener mediciones cualitativas y cuantitativas (en algunos casos) de los parámetros superficiales estudiados. Estos resultados permitieron explicar y fundamentar los códigos neuronales observados en registros multifibras (actividad promedio).

Finalmente, a través de una propuesta, se presentó una implementación práctica de los conocimientos adquiridos en la tesis, en el campo de la metrología de superficies. La propuesta detalla la construcción y uso de vibrisas artificiales, sensores de movimiento y propone el método de procesamiento necesario para medir los parámetros superficiales.



En síntesis, la metodología utilizada, permitió revelar, definir y caracterizar los códigos neuronales involucrados en la integración sensorial de la información táctil percibida por el sistema vibril de la rata (varias vibrilas percibiendo el mismo patrón de información táctil). Estos estudios, estuvieron orientados a la exploración de un aspecto no resuelto en este sistema sensorial: redundancia de información comúnmente observada en sistemas multisensoriales, y la especificidad de cada vibrila (capacidad de discriminar diferentes estímulos). Esto permitió implementar y evaluar modelos computacionales que imiten los procesos neuronales involucrados en la integración sensorial y proporcionaron una utilidad tecnológica.

## Perspectivas futuras

Tras la realización de esta tesis surgieron interrogantes que abren la puerta a nuevos trabajos que contribuirían al desarrollo de nuevas tecnologías y que podrían transferirse para su futura implementación en sistemas tecnológicos multisensoriales que puedan impactar tanto en el ámbito de la salud como de la industria.

Bajo esta premisa, se propone que en el futuro se busque: establecer electrofisiológicamente la zona de trabajo óptima de cada folículo; analizar y definir los procesos funcionales de integración sensorial involucrados en la adquisición de la información táctil; desarrollar, implementar y evaluar modelos computacionales que imiten los procesos de transducción involucrados en la integración sensorial.

La propuesta tiene como objetivo principal modelar e implementar computacionalmente las estrategias fisiológicas involucradas en la obtención de información táctil (varias vibrisas percibiendo el mismo patrón de información táctil). Estos estudios, por lo tanto, estarían orientados a definir la especificidad de cada vibrisa (capacidad de discriminar diferentes estímulos), la integración de información multi-vibrisal y la interpretación de las estrategias. Estos resultados permitirán diseñar e implementar modelos computacionales bio-inspirados en la codificación neuronal de la información táctil que a su vez podrán transferirse para su futura implementación en sistemas tecnológicos multisensoriales que impactarían tanto en la salud como en la industria.

## Referencias

- Adineh, V.R., Liu, B., Rajan, R., Yan, W., Fu, J., 2015. Multidimensional characterisation of biomechanical structures by combining Atomic Force Microscopy and Focused Ion Beam: A study of the rat whisker. *Acta Biomater.* 21, 132–141.  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.03.028>
- Ahl, A.S., 1986. The role of vibrissae in behavior: A status review. *Vet. Res. Commun.* 10, 245–268. <https://doi.org/10.1007/BF02213989>
- Albarracín, A.L., 2008. Estudio fisiológico y anatómico del control motor de las vibrisas de la rata (PhD Thesis). Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán.
- Albarracín, A.L., Farfán, F.D., Felice, C.J., Décima, E.E., 2006. Texture discrimination and multi-unit recording in the rat vibrissal nerve. *BMC Neurosci.* 7.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2202-7-42>
- Altman, K.W., Plonsey, R., 1989. Analysis of the longitudinal and radial resistivity measurements of the nerve trunk. *Ann. Biomed. Eng.* 17, 313–324.
- Andermann, M.L., Ritt, J., Neimark, M.A., Moore, C.I., 2004. Neural correlates of vibrissa resonance; band-pass and somatotopic representation of high-frequency stimuli. *Neuron* 42, 451–463.
- Andreasen, L.N.S., Struijk, J.J., 2002. Signal strength versus cuff length in nerve cuff electrode recordings. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 49, 1045–1050.  
<https://doi.org/10.1109/TBME.2002.800785>
- Arabzadeh, E., Panzeri, S., Diamond, M.E., 2006. Deciphering the spike train of a sensory neuron: counts and temporal patterns in the rat whisker pathway. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 26, 9216–9226. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1491-06.2006>
- Arabzadeh, E., Zorzin, E., Diamond, M.E., 2005. Neuronal Encoding of Texture in the Whisker Sensory Pathway. *PLoS Biol.* 3, e17. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030017>
- Arkley, K., Grant, R.A., Mitchinson, B., Prescott, T.J., 2014. Strategy Change in Vibrissal Active Sensing during Rat Locomotion. *Curr. Biol.* 24, 1507–1512.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.05.036>
- ASME B46.1-2002, 2003.
- Bagdasarian, K., Szwed, M., Knutsen, P.M., Deutsch, D., Derdikman, D., Pietr, M., Simony, E., Ahissar, E., 2013. Pre-neuronal morphological processing of object location by individual whiskers. *Nat. Neurosci.* 16, 622–631. <https://doi.org/10.1038/nn.3378>
- Barker, A.T., Brown, B.H., Freeston, I.L., 1979. Modeling of an Active Nerve Fiber in a Finite Volume Conductor and Its Application to the Calculation of Surface Action Potentials. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* BME-26, 53–56.  
<https://doi.org/10.1109/TBME.1979.326479>

- Bennett, E.L., Diamond, M.C., Krech, D., Rosenzweig, M.R., 1964. CHEMICAL AND ANATOMICAL PLASTICITY BRAIN. *Science* 146, 610–619.
- Bensmaïa, S.J., Hollins, M., 2003. The vibrations of texture. *Somatosens. Mot. Res.* 20, 33–43. <https://doi.org/10.1080/0899022031000083825>
- Bhattacharyya, A., 1943. On a measure of divergence between two statistical populations defined by their probability distributions. *Bull. Calcutta Math. Soc.* 35, 99–109.
- BIOMimetic Technology for vibrissal ACTive Touch [WWW Document], 2009. URL <http://www.brl.ac.uk/research/researchthemes/biomimeticandneuro-robotics/biotact2009-2011.aspx> (accessed 11.14.17).
- Bogatov, N.M., Grigoryan, L.R., Ponetaeva, E.G., Sinisyn, A.S., 2014. Calculation of action potential propagation in nerve fiber. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 114, 170–174. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2014.03.002>
- Borst, A., Theunissen, F.E., 1999. Information theory and neural coding. *Nat. Neurosci.* 2, 947–957. <https://doi.org/10.1038/14731>
- Boubenec, Y., Shulz, D.E., Debrégeas, G., 2012. Whisker encoding of mechanical events during active tactile exploration. *Front. Behav. Neurosci.* 6. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2012.00074>
- Bovet, S., Fend, M., Pfeifer, R., 2004. Simulating Whisker Sensors – on the Role of Material Properties for Morphology, Behavior and Evolution.
- Brecht, M., Preilowski, B., Merzenich, M.M., 1997. Functional architecture of the mystacial vibrissae. *Behav. Brain Res.* 84, 81–97. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)83328-1](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)83328-1)
- Bristol Robotics Laboratory [WWW Document], 2003. URL <http://www.brl.ac.uk/research/researchthemes/biomimeticandneuro-robotics/whiskerbot2003-2006.aspx> (accessed 11.14.17).
- Buchthal, F., Rosenfalck, A., 1966. Evoked action potentials and conduction velocity in human sensory nerves. *Brain Res.*, Evoked action potentials and conduction velocity in human sensory nerves 3, v-122. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(66\)90056-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(66)90056-4)
- Bush, N.E., Schroeder, C.L., Hobbs, J.A., Yang, A.E., Huet, L.A., Solla, S.A., Hartmann, M.J., 2016. Decoupling kinematics and mechanics reveals coding properties of trigeminal ganglion neurons in the rat vibrissal system. *eLife* 5, e13969. <https://doi.org/10.7554/eLife.13969>
- Butts, D.A., Weng, C., Jin, J., Yeh, C.-I., Lesica, N.A., Alonso, J.-M., Stanley, G.B., 2007. Temporal precision in the neural code and the timescales of natural vision. *Nature* 449, 92–95. <https://doi.org/10.1038/nature06105>
- Caddy, D.J., Kranz, H.R., Westerman, R.A., 1981. Electrophysiological determination of peripheral nerve conduction velocity distribution, in: Kidman, A.D., Tomkins, J.K.,

- Westerman, R.A. (Eds.), *New Approaches to Nerve and Muscle Disorders. Basic and Applied Contributions*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, p. 418.
- Carl, K., Hild, W., Mampel, J., Schilling, C., Uhlig, R., Witte, H., 2012. Characterization of Statical Properties of Rat's Whisker System. *IEEE Sens. J.* 12, 340–349.  
<https://doi.org/10.1109/JSEN.2011.2114341>
- Carvell, G.E., Simons, D.J., 1995. Task- and subject-related differences in sensorimotor behavior during active touch. *Somatosens. Mot. Res.* 12, 1–9.
- Carvell, G.E., Simons, D.J., 1990. Biometric analyses of vibrissal tactile discrimination in the rat. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 10, 2638–2648.
- Chichilnisky, E.J., Rieke, F., 2005. Detection sensitivity and temporal resolution of visual signals near absolute threshold in the salamander retina. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 25, 318–330. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2339-04.2005>
- Contento, G., Barbina, V., Malisan, M.R., Padovani, R., Budai, R., Pittaro, I., 1983. Dependence of the linear model for the nerve compound action potential on the single fibre action potential waveform. *Clin. Phys. Physiol. Meas. Off. J. Hosp. Phys. Assoc. Dtsch. Ges. Für Med. Phys. Eur. Fed. Organ. Med. Phys.* 4, 417–433.
- Cover, T.M., Thomas, J.A., 2006. *Elements of Information Theory*, 2nd ed. Wiley.
- Cover, T.M., Thomas, J.A., 1991. *Elements of Information Theory*, Wiley Series in Telecommunications. John Wiley & Sons, Inc., New York, USA.  
<https://doi.org/10.1002/0471200611>
- Dayan, P., 2005. *Theoretical Neuroscience: Computational And Mathematical Modeling of Neural Systems*. Massachusetts Institute of Technology Press.
- Diamond, M.E., Heimendahl, M. von, Arabzadeh, E., 2008. Whisker-Mediated Texture Discrimination. *PLOS Biol.* 6, e220. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060220>
- Dörfl, J., 1985. The innervation of the mystacial region of the white mouse: A topographical study. *J. Anat.* 142, 173–184.
- Dörfl, J., 1982. The musculature of the mystacial vibrissae of the white mouse. *J. Anat.* 135, 147–154.
- Dürig, F., Albarracín, A.L., Farfán, F.D., Felice, C.J., 2009. Design and construction of a photoresistive sensor for monitoring the rat vibrissal displacement. *J. Neurosci. Methods* 180, 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2009.02.020>
- Ebara, S., Kumamoto, K., Matsuura, T., Mazurkiewicz, J.E., Rice, F.L., 2002. Similarities and differences in the innervation of mystacial vibrissal follicle–sinus complexes in the rat and cat: A confocal microscopic study. *J. Comp. Neurol.* 449, 103–119.  
<https://doi.org/10.1002/cne.10277>
- Erlanger, J., Gasser, H.S., 1937. *Electrical signs of nervous activity*, by J. Erlanger and H.S. Gasser, 1st ed. University of Pennsylvania Press, Pennsylvania, USA.

- Farfán, F.D., 2011. Dispositivo de Reconocimiento Táctil de Superficies (Doctoral).  
Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán.
- Farfán, F.D., Albarracín, A.L., Felice, C.J., 2013. Neural encoding schemes of tactile information in afferent activity of the vibrissal system. *J. Comput. Neurosci.* 34, 89–101. <https://doi.org/10.1007/s10827-012-0408-6>
- Farfán, F.D., Albarracín, A.L., Felice, C.J., 2011. Electrophysiological characterization of texture information slip-resistance dependent in the rat vibrissal nerve. *BMC Neurosci.* 12. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-12-32>
- Farfán, F.D., Albarracín, A.L., Felice, C.J., 2007. Temporal code in the vibrissal system - Part I: Vibrissa response to passive stimulation. *J. Phys. Conf. Ser.* 90. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/90/1/012084>
- Fend, M., Bovet, S., Hafner, V.V., 2004. The Artificial Mouse - A Robot with Whiskers and Vision.
- Flury, B.K., Riedwyl, H., 1986. Standard Distance in Univariate and Multivariate Analysis. *Am. Stat.* 40, 249–251. <https://doi.org/10.2307/2684560>
- Georgian, J.C., 1965. Discussion: “Vibration Frequencies of Tapered Bars and Circular Plates” (Conway, H. D., Becker, E. C. H., and Dubil, J. F., 1964, *ASME J. Appl. Mech.*, 31, pp. 329–331). *J. Appl. Mech.* 32, 234–235. <https://doi.org/10.1115/1.3625765>
- Goldman, L., Albus, J.S., 1968. Computation of Impulse Conduction in Myelinated Fibers; Theoretical Basis of the Velocity-Diameter Relation. *Biophys. J.* 8, 596–607.
- Golomb, D., Hertz, J., Panzeri, S., Treves, A., Richmond, B., 1997. How well can we estimate the information carried in neuronal responses from limited samples? *Neural Comput.* 9, 649–665.
- Grewe, J., Kretzberg, J., Warzecha, A.-K., Egelhaaf, M., 2003. Impact of photon noise on the reliability of a motion-sensitive neuron in the fly’s visual system. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 23, 10776–10783.
- Grewe, J., Weckström, M., Egelhaaf, M., Warzecha, A.-K., 2007. Information and Discriminability as Measures of Reliability of Sensory Coding. *PLOS ONE* 2, e1328. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001328>
- Guić-Robles, E., Valdivieso, C., Guajardo, G., 1989. Rats can learn a roughness discrimination using only their vibrissal system. *Behav. Brain Res.* 31, 285–289. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(89\)90011-9](https://doi.org/10.1016/0166-4328(89)90011-9)
- Haag, J., Borst, A., 1997. Encoding of visual motion information and reliability in spiking and graded potential neurons. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 4809–4819.
- Haidarliu, S., Ahissar, E., 2001. Size gradients of barreloids in the rat thalamus. *J. Comp. Neurol.* 429, 372–387.

- Harris, R.M., Woolsey, T.A., 1981. Dendritic plasticity in mouse barrel cortex following postnatal vibrissa follicle damage. *J. Comp. Neurol.* 196, 357–376.  
<https://doi.org/10.1002/cne.901960302>
- Hartmann, M.J., Johnson, N.J., Towal, R.B., Assad, C., 2003. Mechanical characteristics of rat vibrissae: resonant frequencies and damping in isolated whiskers and in the awake behaving animal. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 23, 6510–6519.
- Harvey, M.A., Bermejo, R., Zeigler, H.P., 2001. Discriminative whisking in the head-fixed rat: optoelectronic monitoring during tactile detection and discrimination tasks. *Somatosens. Mot. Res.* 18, 211–222.
- Hill, D.N., Bermejo, R., Zeigler, H.P., Kleinfeld, D., 2008. Biomechanics of the vibrissa motor plant in rat: rhythmic whisking consists of triphasic neuromuscular activity. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 28, 3438–3455. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5008-07.2008>
- Hill, D.N., Curtis, J.C., Moore, J.D., Kleinfeld, D., 2011. Primary motor cortex reports efferent control of vibrissa motion on multiple timescales. *Neuron* 72, 344–356.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.020>
- Hiniñosa Rivera, M., Reyes Melo, M.E., 2001. La rugosidad de las superficies: Topografía. *Ingenierías* 4, 27–33.
- Ito, M., 1985. Processing of vibrissa sensory information within the rat neocortex. *J. Neurophysiol.* 54, 479–490.
- Jacquín, M.F., Hess, A., Yang, G., Adamo, P., Math, M.F., Brown, A., Rhoades, R.W., 1984. Organization of the infraorbital nerve in rat: a quantitative electron microscopic study. *Brain Res.* 290, 131–135. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)90742-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)90742-X)
- Jadhav, S.P., Feldman, D.E., 2010. Texture coding in the whisker system. *Curr. Opin. Neurobiol., Sensory systems* 20, 313–318. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2010.02.014>
- Jadhav, S.P., Wolfe, J., Feldman, D.E., 2009. Sparse temporal coding of elementary tactile features during active whisker sensation. *Nat. Neurosci.* 12, 792–800.  
<https://doi.org/10.1038/nn.2328>
- Jeanmonod, D., Rice, F.L., Van der Loos, H., 1981. Mouse somatosensory cortex: alterations in the barrelfield following receptor injury at different early postnatal ages. *Neuroscience* 6, 1503–1535.
- Kaas, J.H., Merzenich, M.M., Killackey, H.P., 1983. The reorganization of somatosensory cortex following peripheral nerve damage in adult and developing mammals. *Annu. Rev. Neurosci.* 6, 325–356. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.06.030183.001545>
- Killackey, H.P., Dawson, D.R., 1989. Expansion of the Central Hindpaw Representation Following Fetal Forelimb Removal in the Rat. *Eur. J. Neurosci.* 1, 210–221.  
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1989.tb00790.x>

- Klein, B.G., Renehan, W.E., Jacquin, M.F., Rhoades, R.W., 1988. Anatomical consequences of neonatal infraorbital nerve transection upon the trigeminal ganglion and vibrissa follicle nerves in the adult rat. *J. Comp. Neurol.* 268, 469–488.  
<https://doi.org/10.1002/cne.902680402>
- Kleinfeld, D., Deschênes, M., 2011. Neuronal basis for object location in the vibrissa scanning sensorimotor system. *Neuron* 72, 455–468.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.10.009>
- Knutsen, P.M., 2004. Tracking Whisker and Head Movements in Unrestrained Behaving Rodents. *J. Neurophysiol.* 93, 2294–2301. <https://doi.org/10.1152/jn.00718.2004>
- Knutsen, P.M., Ahissar, E., 2009. Orthogonal coding of object location. *Trends Neurosci.* 32, 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2008.10.002>
- Knutsen, P.M., Biess, A., Ahissar, E., 2008. Vibrissal Kinematics in 3D: Tight Coupling of Azimuth, Elevation, and Torsion across Different Whisking Modes. *Neuron* 59, 35–42.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.05.013>
- Koch, K., McLean, J., Berry, M., Sterling, P., Balasubramanian, V., Freed, M.A., 2004. Efficiency of information transmission by retinal ganglion cells. *Curr. Biol. CB* 14, 1523–1530. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.08.060>
- Kretzberg, J., Warzecha, A.-K., Egelhaaf, M., 2001. Neural Coding with Graded Membrane Potential Changes and Spikes. *J. Comput. Neurosci.* 11, 153–164.  
<https://doi.org/10.1023/A:1012845700075>
- Krupa, D.J., Matell, M.S., Brisben, A.J., Oliveira, L.M., Nicolelis, M.A., 2001. Behavioral properties of the trigeminal somatosensory system in rats performing whisker-dependent tactile discriminations. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 21, 5752–5763.
- Lee, K.J., Woolsey, T.A., 1975. A proportional relationship between peripheral innervation density and cortical neuron number in the somatosensory system of the mouse. *Brain Res.* 99, 349–353.
- Linacre, J., 1996. Overlapping normal distributions. *Rasch Meas. Trans.* 487.
- Lorente de Nó R, 1923. La corteza cerebral del ratón. *Trab. Lab Invest Biol Univ Madr.* 41–78.
- Lucianna, F.A., Albarracín, A.L., Vrech, S.M., Farfán, F.D., Felice, C.J., 2016a. The mathematical whisker: A review of numerical models of the rat's vibrissa biomechanics. *J. Biomech.* 49, 2007–2014. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2016.05.019>
- Lucianna, F.A., Farfán, F.D., Pizá, G.A., Albarracín, A.L., Felice, C.J., 2016b. Functional specificity of rat vibrissal primary afferents. *Physiol. Rep.* 4.  
<https://doi.org/10.14814/phy2.12810>
- Lyne, A.G., 1959. The Systematic and Adaptive Significance of the Vibrissae in the Marsupialia\*. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 133, 79–133. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1959.tb05555.x>



- Machens, C.K., Stemmler, M.B., Prinz, P., Krahe, R., Ronacher, B., Herz, A.V.M., 2001. Representation of Acoustic Communication Signals by Insect Auditory Receptor Neurons. *J. Neurosci.* 21, 3215–3227.
- Magri, C., Whittingstall, K., Singh, V., Logothetis, N.K., Panzeri, S., 2009. A toolbox for the fast information analysis of multiple-site LFP, EEG and spike train recordings. *BMC Neurosci.* 10, 81. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-10-81>
- Mahalanobis, P., 1936. On the generalised distance in statistics. Presented at the Proceedings National Institute of Science, India, pp. 49–55.
- Maravall, M., Diamond, M.E., 2014. Algorithms of whisker-mediated touch perception. *Curr. Opin. Neurobiol., Theoretical and computational neuroscience* 25, 176–186. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.01.014>
- McComas, A., 2011. Galvani's Spark: The Story of the Nerve Impulse. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Mitra, P.P., Pesaran, B., 1999. Analysis of dynamic brain imaging data. *Biophys. J.* 76, 691–708. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)77236-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)77236-X)
- Mosconi, T.M., Rice, F.L., Song, M.J., 1993. Sensory innervation in the inner conical body of the vibrissal follicle-sinus complex of the rat. *J. Comp. Neurol.* 328, 232–251. <https://doi.org/10.1002/cne.903280206>
- Mukaibo, Y., Shirado, H., Konyo, M., Maeno, T., 2005. Development of a Texture Sensor Emulating the Tissue Structure and Perceptual Mechanism of Human Fingers, in: Proceedings of the 2005 IEEE International Conference on Robotics and Automation. Presented at the Proceedings of the 2005 IEEE International Conference on Robotics and Automation, pp. 2565–2570. <https://doi.org/10.1109/ROBOT.2005.1570499>
- Neimark, M.A., Andermann, M.L., Hopfield, J.J., Moore, C.I., 2003. Vibrissa Resonance as a Transduction Mechanism for Tactile Encoding. *J. Neurosci.* 23, 6499–6509.
- O'Connor, D.H., Hires, S.A., Guo, Z.V., Li, N., Yu, J., Sun, Q.Q., Huber, D., Svoboda, K., 2013. Neural coding during active somatosensation revealed using illusory touch. *Nat. Neurosci.* 16, 958–965. <https://doi.org/10.1038/nn.3419>
- Oddo, Calogero Maria, Beccai, L., Felder, M., Giovacchini, F., Carrozza, M.C., 2009. Artificial Roughness Encoding with a Bio-inspired MEMS- based Tactile Sensor Array. *Sensors* 9, 3161–3183. <https://doi.org/10.3390/s90503161>
- Oddo, C. M., Beccai, L., Muscolo, G.G., Carrozza, M.C., 2009. A biomimetic MEMS-based tactile sensor array with fingerprints integrated in a robotic fingertip for artificial roughness encoding, in: 2009 IEEE International Conference on Robotics and Biomimetics (ROBIO). Presented at the 2009 IEEE International Conference on Robotics and Biomimetics (ROBIO), pp. 894–900. <https://doi.org/10.1109/ROBIO.2009.5420491>

- Optican, L.M., Gawne, T.J., Richmond, B.J., Joseph, P.J., 1991. Unbiased measures of transmitted information and channel capacity from multivariate neuronal data. *Biol. Cybern.* 65, 305–310.
- Pammer, L., O'Connor, D.H., Hires, S.A., Clack, N.G., Huber, D., Myers, E.W., Svoboda, K., 2013. The mechanical variables underlying object localization along the axis of the whisker. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 6726–6741.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4316-12.2013>
- Paninski, L., 2003. Convergence properties of three spike-triggered analysis techniques. *Netw. Bristol Engl.* 14, 437–464.
- Panzeri, S., Treves, A., 1996. Analytical estimates of limited sampling biases in different information measures. <https://doi.org/10.1088/0954-898X/7/1/006>
- Passaglia, C.L., Troy, J.B., 2004. Information transmission rates of cat retinal ganglion cells. *J. Neurophysiol.* 91, 1217–1229. <https://doi.org/10.1152/jn.00796.2003>
- Pearson, M.J., Mitchinson, B., Sullivan, J.C., Pipe, A.G., Prescott, T.J., 2011. Biomimetic vibrissal sensing for robots. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 366, 3085–3096.  
<https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0164>
- Pearson, M.J., Pipe, A.G., Melhuish, C., Mitchinson, B., Prescott, T.J., 2007. Whiskerbot: A Robotic Active Touch System Modeled on the Rat Whisker Sensory System. *Adapt. Behav.* 15, 223–240. <https://doi.org/10.1177/1059712307082089>
- Pehlivan, F., Dalkilic, N., Kiziltan, E., 2004. Does the conduction velocity distribution change along the nerve? *Med. Eng. Phys.* 26, 395–401.  
<https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2004.02.009>
- Pizá, A.G., Farfan, F.D., Albarracin, A.L., Lucianna, F.A., Soletta, J.H., Felice, C.J., 2016. A simplified empirical modeling of electrophysiological activity in a bundle of myelinated nerve fibers. *IEEE Lat. Am. Trans.* 14, 3345–3350.  
<https://doi.org/10.1109/TLA.2016.7587640>
- Pocock, R.I., 1914. On the Facial Vibrissæ of Mammalia. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 84, 889–912.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1914.tb07067.x>
- Prescott, T.J., Mitchinson, B., Grant, R.A., 2011. Vibrissal Behavior and Function. *Scholarpedia, Touch - Neuroethology.*
- Prescott, T.J., Pearson, M.J., Mitchinson, B., Sullivan, J.C.W., Pipe, A.G., 2009. Whisking with robots. *IEEE Robot. Autom. Mag.* 16, 42–50.  
<https://doi.org/10.1109/MRA.2009.933624>
- Qian, S., 2002. *Introduction to Time-frequency and Wavelet Transforms.* Prentice Hall PTR.
- Quiroga, R.Q., Nadasdy, Z., Ben-Shaul, Y., 2004. Unsupervised Spike Detection and Sorting with Wavelets and Superparamagnetic Clustering. *Neural Comput.* 16, 1661–1687.  
<https://doi.org/10.1162/089976604774201631>

- Quist, B.W., Faruqi, R.A., Hartmann, M.J.Z., 2011. Variation in Young's modulus along the length of a rat vibrissa. *J. Biomech.* 44, 2775–2781.  
<https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2011.08.027>
- Quist, B.W., Hartmann, M.J.Z., 2012. Mechanical signals at the base of a rat vibrissa: the effect of intrinsic vibrissa curvature and implications for tactile exploration. *J. Neurophysiol.* 107, 2298–2312. <https://doi.org/10.1152/jn.00372.2011>
- Reutskiy, S., Rossoni, E., Tirozzi, B., 2003. Conduction in bundles of demyelinated nerve fibers: computer simulation. *Biol. Cybern.* 89, 439–448.  
<https://doi.org/10.1007/s00422-003-0430-x>
- Rice, F.L., Fundin, B.T., Arvidsson, J., Aldskogius, H., Johansson, O., 1997. Comprehensive immunofluorescence and lectin binding analysis of vibrissal follicle sinus complex innervation in the mystacial pad of the rat. *J. Comp. Neurol.* 385, 149–184.
- Rice, F.L., Mance, A., Munger, B.L., 1986. A comparative light microscopic analysis of the sensory innervation of the mystacial pad. I. Innervation of vibrissal follicle-sinus complexes. *J. Comp. Neurol.* 252, 154–174. <https://doi.org/10.1002/cne.902520203>
- Rice, J.A., 1995. *Mathematical Statistics and Data Analysis*. Duxbury Press.
- Rieke, F., 1999. *Spikes: Exploring the Neural Code*. MIT Press.
- Ruch, T.C., 1973. *Physiology and biophysics*, 20th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Ruiz, G., Felice, C.J., 2007. Non-linear response of an electrode–electrolyte interface impedance with the frequency. *Chaos Solitons Fractals* 31, 327–335.  
<https://doi.org/10.1016/j.chaos.2005.09.064>
- Scheibert, J., Leurent, S., Prevost, A., Debrégeas, G., 2009. The Role of Fingerprints in the Coding of Tactile Information Probed with a Biomimetic Sensor. *Science* 323, 1503–1506. <https://doi.org/10.1126/science.1166467>
- Schoonhoven, R., Stegeman, D.F., DE Weerd, J.P.C., 1986a. The Forward Problem in Electroneurography I: A Generalized Volume Conductor Model. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* BME-33, 327–334. <https://doi.org/10.1109/TBME.1986.325718>
- Schoonhoven, R., Stegeman, D.F., van Oosterom, A., 1986b. The Forward Problem in Electroneurography II: Comparison of Models. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* BME-33, 335–341. <https://doi.org/10.1109/TBME.1986.325719>
- Schultz, A.E., Solomon, J.H., Peshkin, M.A., Hartmann, M.J., 2005. Multifunctional Whisker Arrays for Distance Detection, Terrain Mapping, and Object Feature Extraction, in: *Proceedings of the 2005 IEEE International Conference on Robotics and Automation*. Presented at the Proceedings of the 2005 IEEE International Conference on Robotics and Automation, pp. 2588–2593. <https://doi.org/10.1109/ROBOT.2005.1570503>
- Shannon, C.E., 1948. A Mathematical Theory of Communication. *Bell Syst. Tech. J.* 27, 379–423. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>

- Shoykhet, M., Doherty, D., Simons, D.J., 2000. Coding of deflection velocity and amplitude by whisker primary afferent neurons: implications for higher level processing. *Somatosens. Mot. Res.* 17, 171–180.
- Silverman, R.M., Brunett, P.M., 1978. *The Compound Action Potential: An Introduction of Principles of Neurophysiology*. Phipps & Bird, Incorporated.
- Szwed, M., Bagdasarian, K., Ahissar, E., 2003. Encoding of Vibrissal Active Touch. *Neuron* 40, 621–630. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00671-8](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00671-8)
- Towal, R.B., Quist, B.W., Gopal, V., Solomon, J.H., Hartmann, M.J.Z., 2011. The Morphology of the Rat Vibrissal Array: A Model for Quantifying Spatiotemporal Patterns of Whisker-Object Contact. *PLOS Comput. Biol.* 7, e1001120. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1001120>
- Tsytsarev, V., Pumbo, E., Tang, Q., Chen, C.-W., Kalchenko, V., Chen, Y., 2016. Study of the cortical representation of whisker frequency selectivity using voltage-sensitive dye optical imaging. *IntraVital* 5, e1142637. <https://doi.org/10.1080/21659087.2016.1142637>
- Van der Loos, H., Dörfel, J., Welker, E., 1984. Variation in pattern of mystacial vibrissae in mice. A quantitative study of ICR stock and several inbred strains. *J. Hered.* 75, 326–336.
- Van der Loos, H., Woolsey, T.A., 1973. Somatosensory cortex: structural alterations following early injury to sense organs. *Science* 179, 395–398.
- Victor, J.D., 2006. Approaches to Information-Theoretic Analysis of Neural Activity. *Biol. Theory* 1, 302–316.
- Victor, J.D., 2000. Asymptotic bias in information estimates and the exponential (Bell) polynomials. *Neural Comput.* 12, 2797–2804.
- Vincent, S.B., 1912. *The functions of the vibrissae in the behavior of the white rat*. University of Chicago.
- Voges, D., Carl, K., Klauer, G.J., Uhlig, R., Schilling, C., Behn, C., Witte, H., 2012. Structural Characterization of the Whisker System of the Rat. *IEEE Sens. J.* 12, 332–339. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2011.2161464>
- Waite, P.M., Li, L., 1993. Unmyelinated innervation of sinus hair follicles in rats. *Anat. Embryol. (Berl.)* 188, 457–465.
- Wang, T., Fan, Z., 1992. A modified bidomain model for extracellular potential of the active bundle of compound nerve fibres, in: 1992 14th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Presented at the 1992 14th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, pp. 827–828. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.1992.5761259>

- Wijesinghe, R.S., Gielen, F.L.H., Wikswo, J.P., 1991. A model for compound action potentials and currents in a nerve bundle I: The forward calculation. *Ann. Biomed. Eng.* 19, 43–72. <https://doi.org/10.1007/BF02368460>
- Wolfe, J., Hill, D.N., Pahlavan, S., Drew, P.J., Kleinfeld, D., Feldman, D.E., 2008. Texture Coding in the Rat Whisker System: Slip-Stick Versus Differential Resonance. *PLOS Biol.* 6, e215. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060215>
- Woolsey, T.A., 1988. Barrels, Vibrissae, and Topographic Representations, in: *Sensory Systems: II, Readings from the Encyclopedia of Neuroscience*. Birkhäuser Boston, pp. 7–9. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-6760-4\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-6760-4_4)
- Woolsey, T.A., Van der Loos, H., 1970. The structural organization of layer IV in the somatosensory region (SI) of mouse cerebral cortex. The description of a cortical field composed of discrete cytoarchitectonic units. *Brain Res.* 17, 205–242.
- Yan, W., Kan, Q., Kergrene, K., Kang, G., Feng, X.-Q., Rajan, R., 2013. A truncated conical beam model for analysis of the vibration of rat whiskers. *J. Biomech.* 46, 1987–1995. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2013.06.015>
- Yu, Y.S.W., Graff, M.M., Bresee, C.S., Man, Y.B., Hartmann, M.J.Z., 2016a. Whiskers aid anemotaxis in rats. *Sci. Adv.* 2. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600716>
- Yu, Y.S.W., Graff, M.M., Hartmann, M.J.Z., 2016b. Mechanical responses of rat vibrissae to airflow. *J. Exp. Biol.* 219, 937–948. <https://doi.org/10.1242/jeb.126896>
- Zhan, Y., Halliday, D., Jiang, P., Liu, X., Feng, J., 2006. Detecting time-dependent coherence between non-stationary electrophysiological signals--a combined statistical and time-frequency approach. *J. Neurosci. Methods* 156, 322–332. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2006.02.013>

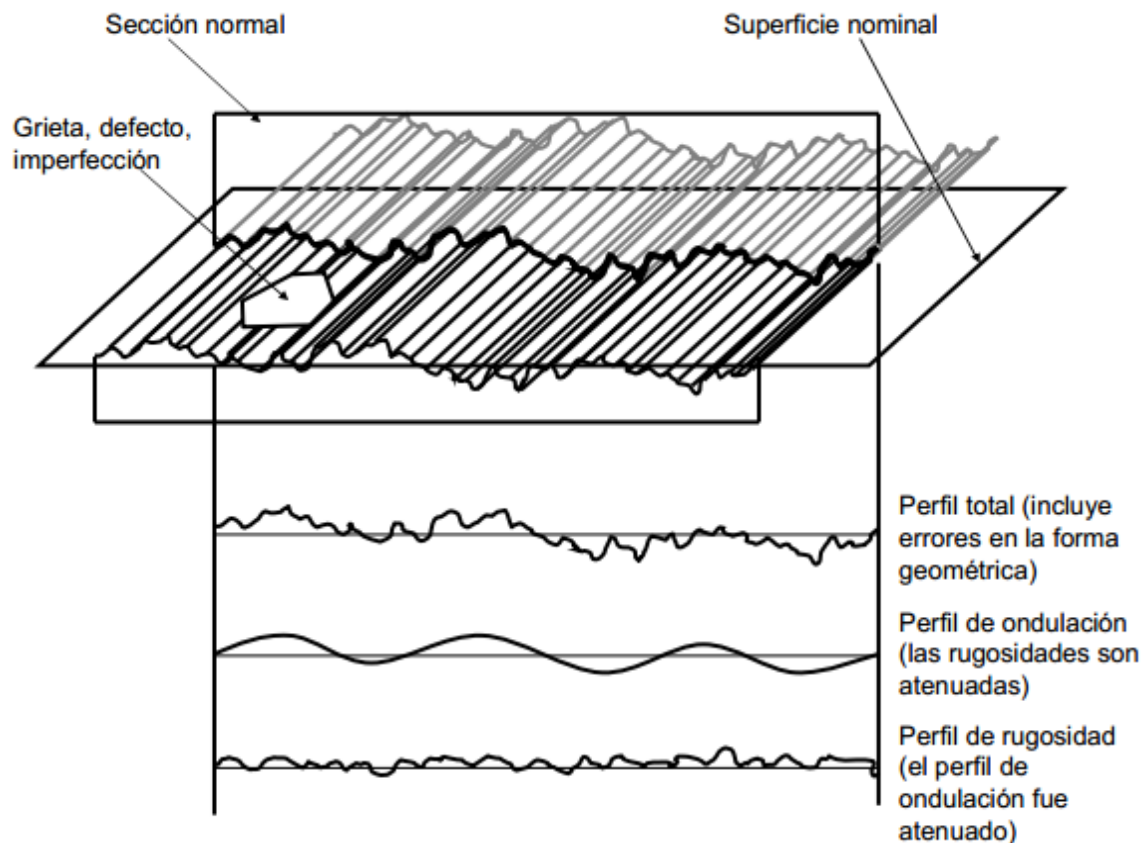
## Apéndice A: Medición de superficies rugosas

### A.1 Caracterización de Superficies

La caracterización rigurosa de las superficies es un trabajo esencialmente estadístico, cuyo objetivo primario es describir la distribución de asperezas, basándose fundamentalmente en la construcción de una distribución Gaussiana (aleatoria), de las elevaciones de la superficie. Estas aproximaciones iniciales funcionan bien para un buen número de aplicaciones de ingeniería. Hoy existen más de 30 parámetros diferentes para cuantificar la topografía superficial. Parámetros estadísticos de la distribución de alturas superficiales tales como el RMS (Root Mean Square), por sus siglas en inglés; la pendiente,  $\sigma'$  y la curvatura  $\sigma''$ , se usan con frecuencia para caracterizar superficies. Actualmente, las medidas estadísticas son las más utilizadas, debido a la morfología de las superficies. Sin embargo, se han observado serias deficiencias en estos modelos ya que no tienen en cuenta características tales como, la distribución no estacionaria de las alturas, las características multi-escalares de la geometría de la superficie, y su dependencia con la resolución del instrumento utilizado para adquirir los datos topográficos. Por esta razón, la caracterización de superficies sigue siendo tema bajo estudio. A pesar de esto se han establecido normas para describir cuantitativamente la textura de una superficie. El ASME Standards Committee B46 describe las irregularidades geométricas de las superficies, define textura y sus constituyentes: rugosidad, ondulación y forma. Las definiciones establecidas por esta norma, y que son de importancia para este trabajo de tesis son:

#### A.1.1 Definición formal de las características físicas de una superficie

- Superficie. Límite que separa un objeto de otro, sustancia o espacio.
- Superficie real. Límite real del objeto. Las desviaciones de la superficie nominal provienen de los procesos que producen la superficie.
- Superficie medida. Es una representación de la superficie real obtenida a través del uso de un instrumento de medición.
- Superficie nominal. Superficie abarcada (excluyendo la rugosidad). También se puede decir que es la extensión y la forma con la cual usualmente es mostrada o dimensionada en un dibujo o alguna especificación descriptiva (Fig. A.1).



**Figura A.1:** Diagrama esquemático de las características de superficie.

#### A.1.2 Componentes de la superficie real

La superficie real es la que exhibe la textura superficial, los defectos y errores de forma. Es considerada como una superposición lineal de rugosidades, curvaturas y formas con el adicional de defectos o imperfecciones.

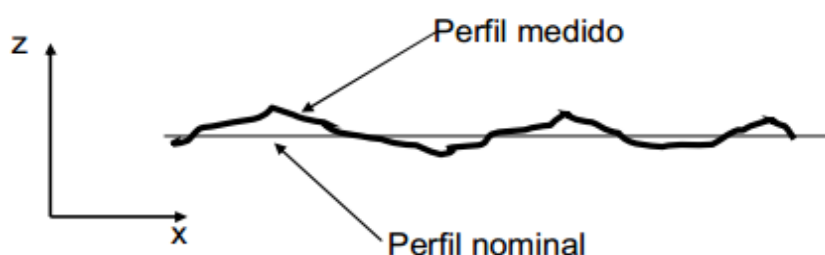
- Defectos o imperfecciones. Son interrupciones no intencionadas, inesperadas e indeseadas en la topografía típica de una superficie.
- Forma. Es la dirección predominante del patrón superficial, comúnmente determinado por el método usado en la generación de la superficie.
- Rugosidad. Son las irregularidades más finas de la superficie, las cuales usualmente son el resultado de la acción inherente del proceso de producción o condición del material.
- Textura. Está compuesta por las desviaciones típicas de la superficie real. Están incluidas la rugosidad y la ondulación.
- Ondulación. Son los componentes más espaciados. Estos pueden ser causados por muchos factores tales como deflexiones en el maquinado. La rugosidad generalmente es considerada como superpuesta sobre esta ondulación.

### A.1.3 Definiciones relacionadas a mediciones de textura por métodos perfilométricos

Las características definidas arriba son inherentes a las superficies e independientes del método de medición. Los métodos de medición de texturas superficiales generalmente se clasifican en: métodos de contacto, sin contacto y métodos tridimensionales (área) o bidimensionales (perfiles). A continuación, solo se detallarán las mediciones obtenidas por los métodos de contacto, debido a que son de mayor incumbencia en esta tesis.

#### A.1.3.1 Perfiles

- Perfil medido. Es una representación del perfil real obtenido a través de un instrumento de medición (Fig. A.2). El perfil es usualmente dibujado en un sistema de coordenadas x-z.
- Perfil modificado. Es un perfil medido al cual le fueron aplicados mecanismos de filtrado (eléctrico, mecánico, óptico o digitales). Estos generalmente son usados para minimizar ciertas características superficiales y enfatizar otras.
- Perfil nominal. El perfil nominal de una superficie es una línea recta o una curva suave.
- Método perfilométrico. Es una técnica de medición que produce un gráfico bidimensional (perfil) con las irregularidades de la superficie.
- Perfil real. Es el perfil real de la superficie.
- Perfil de rugosidad. Es el perfil modificado obtenido a través de un filtrado con el fin de atenuar las longitudes de onda más largas asociados con la ondulación. (Fig. A.1).
- Perfil total. Es un perfil medido en el cual las alturas y espacios del perfil podrán ser ampliados de manera diferente, pero en el que ninguna modificación intencional o filtrado se ha aplicado (Fig. A.1).



**Figura A.2:** Perfil medido versus perfil nominal.

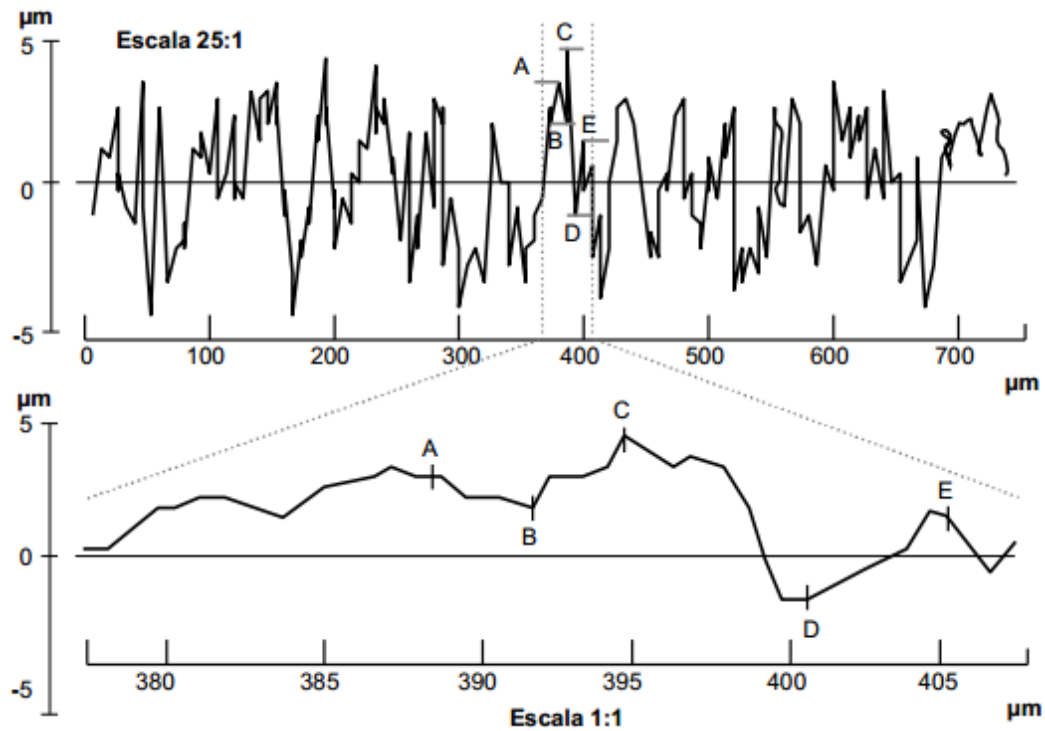
- Perfil de ondulación. Es un perfil modificado obtenido a través de un filtrado. Este último es adecuado para atenuar las longitudes de ondas más cortas (asociados con la rugosidad) y longitudes más grandes asociados a la forma (Fig. A.1).

#### A.1.3.2 Relación de aspecto

La visualización de los perfiles generados por instrumentos, las desviaciones de altura desde el perfil geométrico son usualmente amplificadas muchas veces más que las distancia a lo



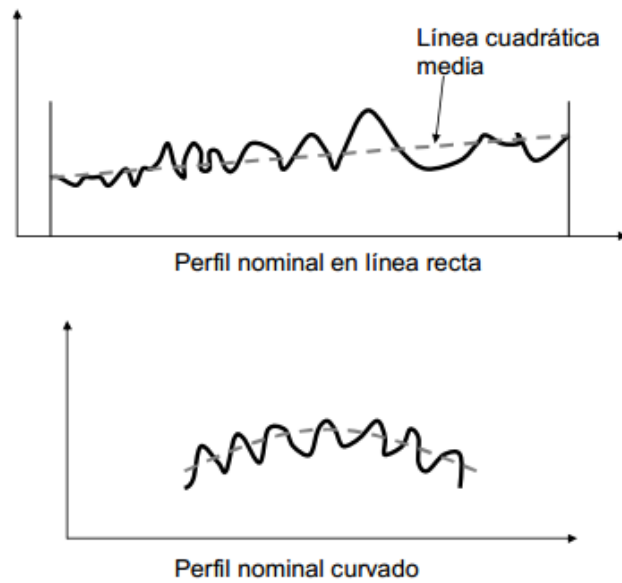
largo del perfil geométrico (ver Fig. A.3). Las agudezas de los picos y valles son en gran medida representaciones distorsionadas de los perfiles reales.



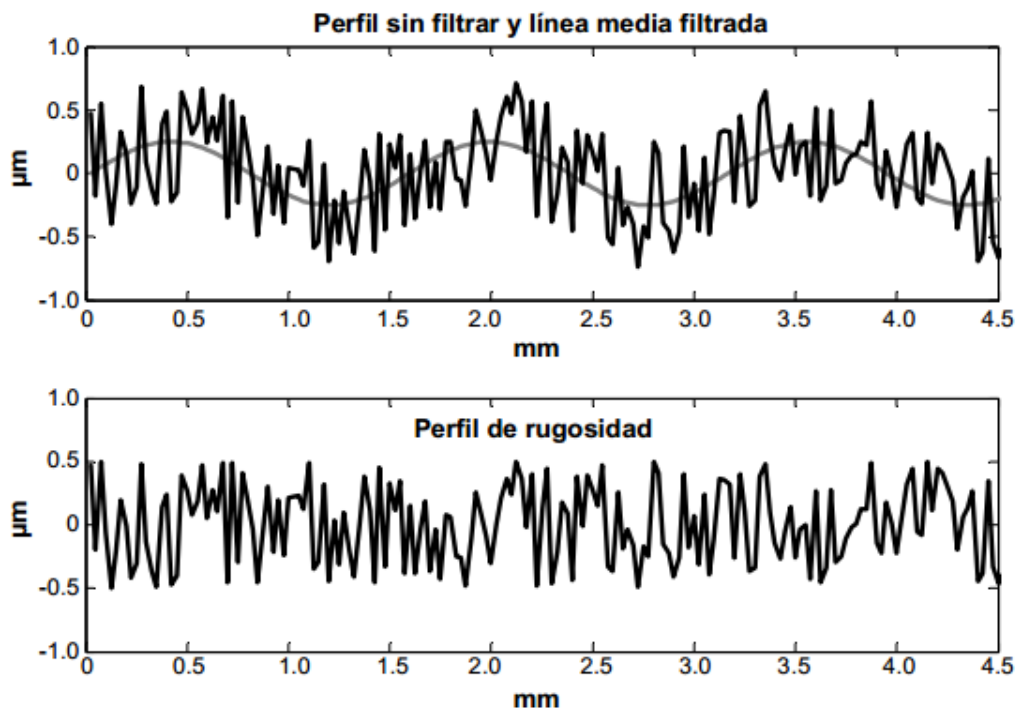
**Figura A.3:** Perfil a dos diferentes relaciones de aspecto.

#### A.1.3.3 Líneas medias de referencia

- Línea media (M). Es la línea de referencia alrededor del cual las desviaciones del perfil son medidas. La línea media puede ser determinada de varias formas (discutidas más adelante).
- Línea media de mínimos cuadrados. Es una línea que tiene la forma del perfil nominal y es obtenida dividiendo el perfil de modo que, en cada intervalo, las sumas de los cuadrados de las desviaciones del perfil a esta línea son mínimas. La forma nominal del perfil debería ser una línea recta o curva (Fig. A.4).
- Línea media filtrada. Es la línea media que se obtiene cuando el perfil de rugosidad es filtrado (Fig. A.5). La diferencia entre el perfil y el perfil de ondulación da como resultado el perfil de rugosidad.



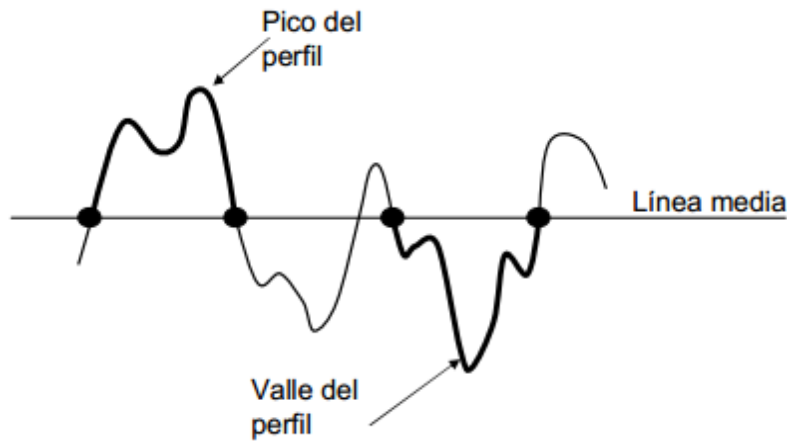
**Figura A.4:** Ejemplo de perfiles nominales.



**Figura A.5:** Filtrado de un perfil de superficie.

#### A.1.3.4 Picos y valles del perfil

Los picos son los puntos de máxima altura observados entre dos intersecciones del perfil con la línea media (están por arriba de la línea media) (Fig. A.6). Contrariamente, los valles son los puntos de máxima profundidad observados entre dos intersecciones del perfil con la línea media (están por debajo de la línea media) (Fig. A.6). A partir de estas dos características es posible proporcionar información acerca de la frecuencia espacial de la superficie (por ejemplo, la inversa de la distancia entre picos locales de una superficie).



**Figura A.6:** Picos y valles del perfil.

#### A.1.4 Definiciones de Parámetros de Superficie obtenidos por Perfilometría

La norma (“ASME B46.1-2002,” 2003) establece una serie de parámetros que permiten distinguir o comparar un perfil de otro. Los más usados en la actualidad son: las desviaciones en altura del perfil nominal y las distancias entre desviaciones comparables. En otras palabras, se idearon combinaciones matemáticas para comparar cuantitativamente las características superficiales.

##### A.1.4.1 Parámetros de altura

En general estos parámetros describen una medición del perfil tomada en la dirección normal al perfil nominal y se expresan en micrómetros. Los parámetros establecidos por la norma ASME B46.1-2002, son descriptos a continuación.

- Función de altura del perfil,  $Z(x)$ . Es la función usada para representar punto por punto las desviaciones entre el perfil medido y la línea media de referencia (Fig. A.7). Para instrumentos digitales, el perfil  $Z(x)$  está aproximado por un conjunto de valores digitalizados ( $Z_i$ ) registrados con un intervalo de muestreo ( $\Delta$ ).
- La raíz cuadrada media (RMS) de la rugosidad,  $R_q$ . Es el RMS promedio de las desviaciones del perfil de alturas, obtenido a lo largo de la ventana de evaluación y medidos desde la línea media.

Analíticamente está dada por:

$$R_q = \left[ \frac{1}{L} \int_0^L Z(x)^2 dx \right]^{1/2}$$

La aproximación digital estaría dada por:

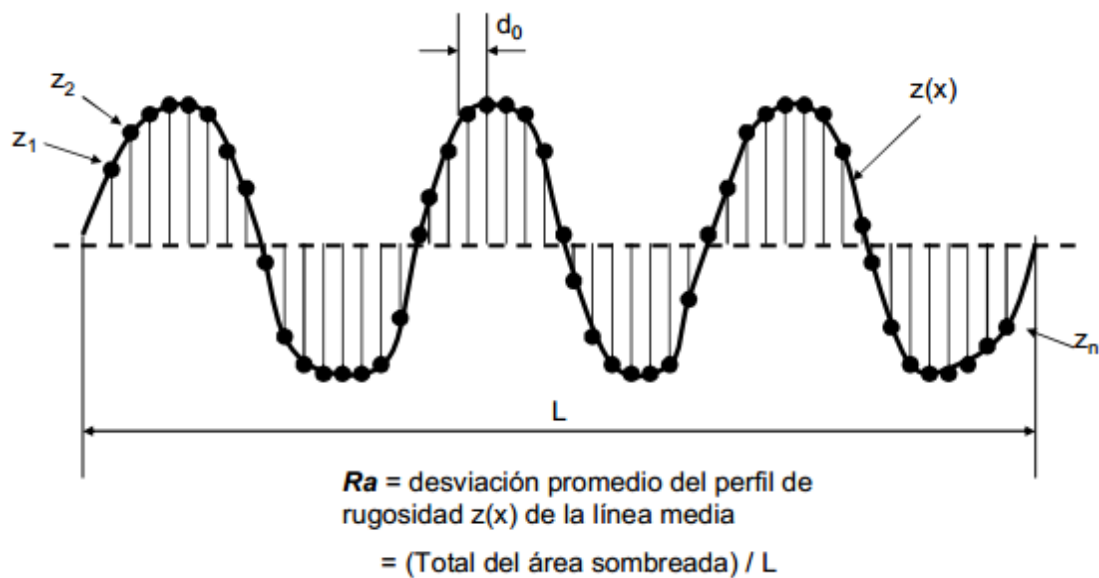
$$R_q = \left[ \frac{Z_1^2 + Z_2^2 + Z_3^2 + \dots + Z_N^2}{N} \right]^{1/2}$$

- Rugosidad promedio,  $R_a$ . Es el promedio aritmético de los valores absolutos de las desviaciones del perfil de alturas registrados a lo largo de la ventana de evaluación y medidos desde la línea media. Como se muestra en la Fig. A.7,  $R_a$  es igual a la suma de las áreas sombreadas del perfil, dividido por la longitud de la ventana de evaluación  $L$ . Analíticamente en parámetro  $R_a$  está dado por:

$$R_a = \frac{1}{L} \int_0^L |Z(x)| dx$$

Para instrumentos digitales una aproximación del valor  $R_a$  es obtenido por la suma absoluta de los valores  $Z_i$ , y dividiendo la suma por el número de puntos.

$$R_a = \frac{|Z_1| + |Z_2| + |Z_3| + \dots + |Z_N|}{N}$$



**Figura A.7:** Ilustración del cálculo de la rugosidad promedio  $R_a$ .

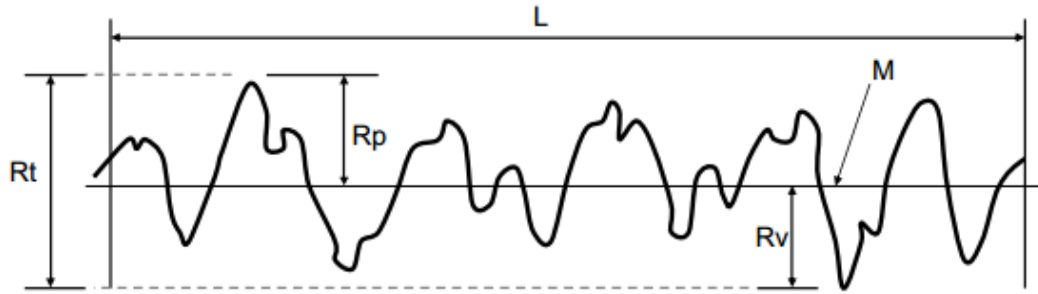
- Pico máximo del perfil,  $R_p$ . Es la distancia entre los puntos más altos y la línea media del perfil (Fig. A.8) calculado a lo largo de la ventana de evaluación.
- $R_{pi}$ . Es la distancia entre los puntos más altos del perfil y la línea media, obtenido en un segmento llamado  $i$  (Fig. A.9).
- Pico máximo promedio,  $R_{pm}$ . Es el promedio de valores sucesivos de  $R_{pi}$  calculados a lo largo de la ventana de evaluación.

$$R_{pm} = \frac{1}{5} \sum_{i=1}^5 R_{pi}$$

- Máxima profundidad del valle,  $R_v$ . Es la distancia entre los puntos más bajos y la línea media del perfil obtenido a lo largo de la ventana de evaluación (Fig. A.8).

- Máxima altura del perfil,  $R_t$ . Es la distancia vertical entre los puntos más altos y más bajo del perfil (Fig. A.8) calculado a lo largo de la ventana de evaluación.

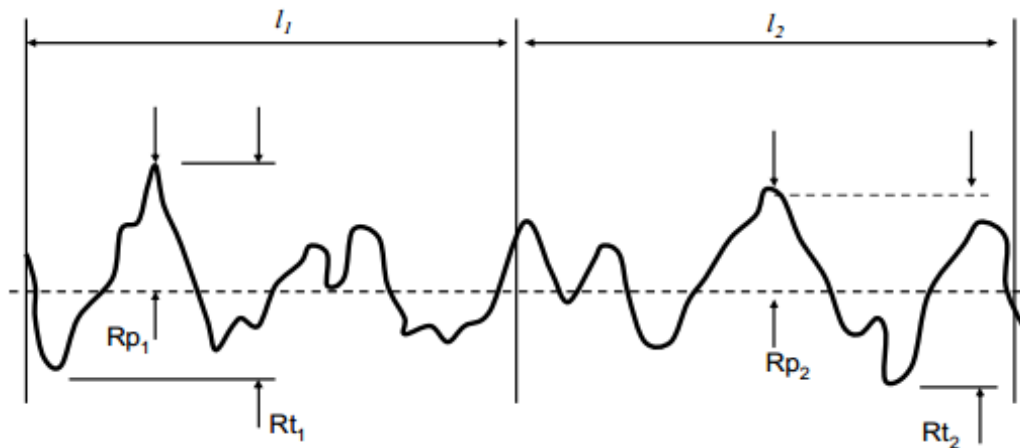
$$R_t = R_p + R_v$$



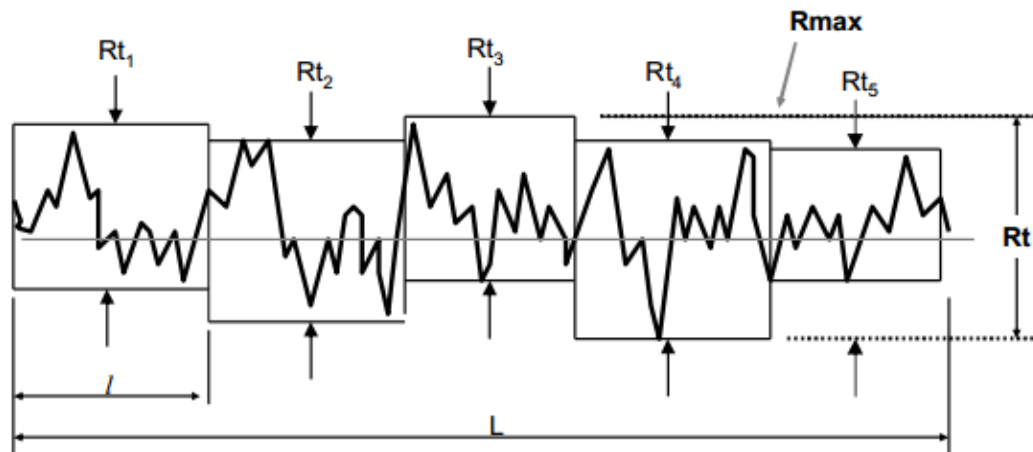
**Figura A.8:** Parámetros  $R_t$ ,  $R_p$  y  $R_v$ .

- $R_{ti}$ . Es la distancia vertical entre los puntos más alto y más bajo del perfil, obtenido en un segmento llamado  $i$  (Fig. A.9).
- Profundidad de rugosidad máxima,  $R_{max}$ . Es el valor más alto de los  $R_{ti}$  calculados a lo largo de la ventana de evaluación (Fig. A.10).
- Altura máxima promedio del perfil,  $R_z$ . Es el promedio de los valores sucesivos de  $R_{ti}$  calculados a lo largo de la ventana de evaluación.

$$R_z = \frac{1}{5} \sum_{i=1}^5 R_{ti} \quad (\text{ver figura A.10})$$



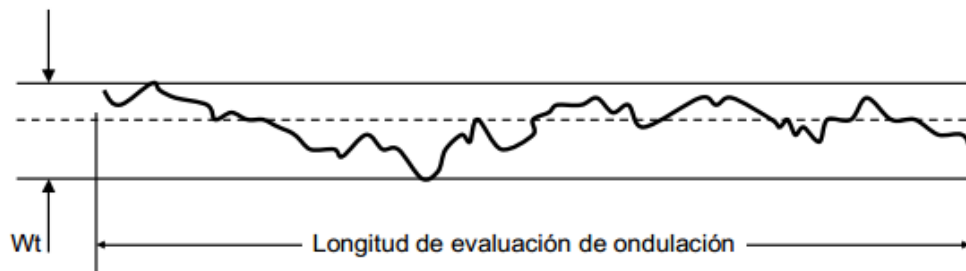
**Figura A.9:** Perfil de superficie conteniendo dos longitudes,  $l_1$  y  $l_2$ . También se muestran los parámetros  $R_{pi}$  y  $R_{ti}$ .



**Figura A.10:** Parámetros Rt y Rmax.

#### A.1.4.2 Parámetros de ondulación de la amplitud

- Altura de la ondulación, Wt. Es la altura del pico al valle del perfil modificado. En este perfil la rugosidad y la forma han sido removidos a través del filtrado y/o suavizado (Fig. A.11).



**Figura A.11:** Altura de la ondulación, Wt.

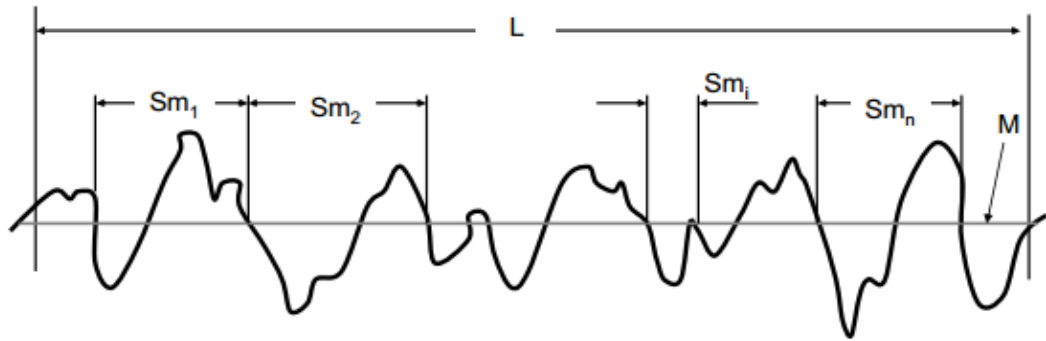
#### A.1.4.3 Parámetros de distancia

- Parámetro de distancia. Es una distancia que caracteriza la distancia lateral entre las asperezas de los perfiles individuales.
- Distancia media de las irregularidades del perfil, RSm. Es el valor medio de la distancia entre las irregularidades del perfil dentro de la ventana de evaluación. En la Fig. A.12:

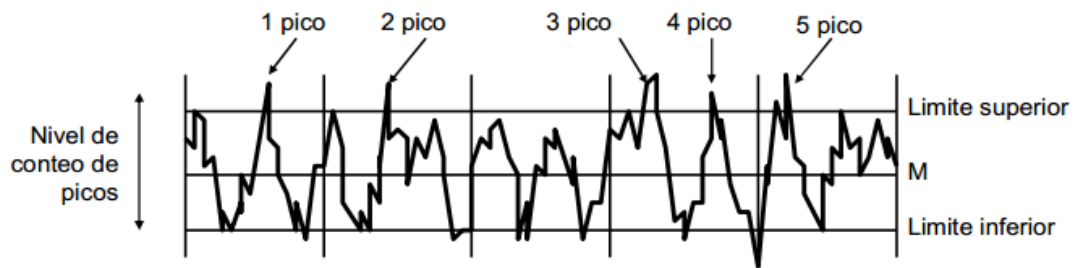
$$RSm = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n Sm_i$$

- Picos SAE. Es una irregularidad en donde el perfil intercepta consecutivamente una línea límite superior e inferior. Las líneas son localizadas paralelamente y equidistante a la línea media del perfil (Fig. A.13).
- Nivel de conteo de picos. Es la distancia vertical entre las líneas límites descritas en la definición de picos SAE (Fig. A.13).

- Densidad de picos, Pc. Es el número de picos SAE por unidad de longitud, medido en un nivel de conteo de picos a lo largo de la ventana de evaluación.



**Figura A.12:** Distancia media de las irregularidades del perfil, RSm.



**Figura A.13:** Nivel de conteo de picos, usado para calcular la densidad de picos.

#### A.1.4.4 Otras especificaciones dadas por la norma

La norma también establece otros parámetros los cuales caracterizan propiedades tales como la forma de la superficie. Estas están dadas por funciones y Nivel de conteo de picos parámetros de forma, tales como la función de densidad de amplitudes, la longitud de correlación, la kurtosis, la densidad espectral de potencias, asimetría, entre otros.

## A.2 Medición de superficies rugosas

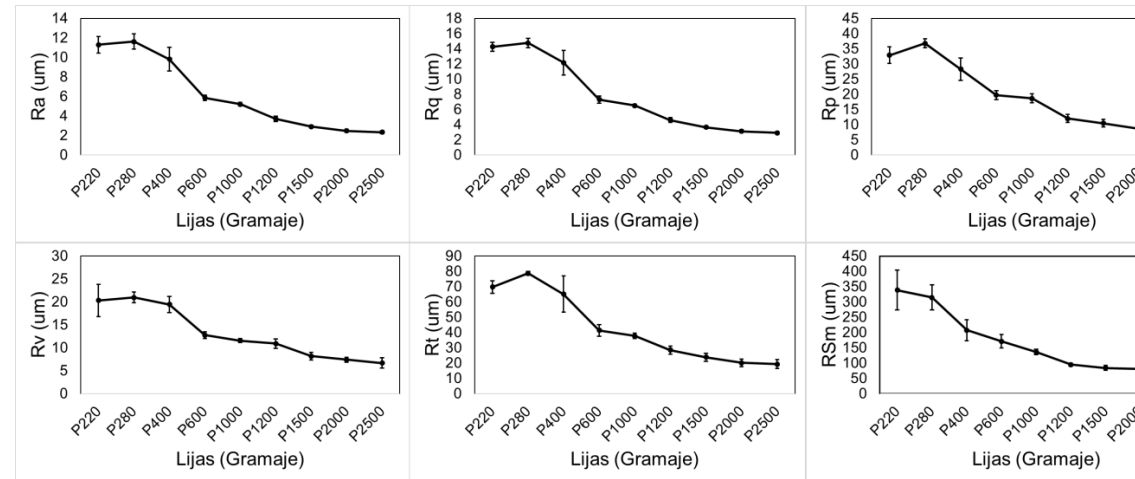
Se utilizó un perfilómetro HOMMEL TESTER T1000 para obtener los parámetros de rugosidad de las superficies empleadas en los experimentos de esta tesis. Las principales características del perfilómetro son:

- Rangos de resolución:  $\pm 80\mu\text{m}$  /  $0.01\mu\text{m}$ ;  $320\mu\text{m}/0.04\mu\text{m}$
- Longitud transversal de barrido Lt (mm): 0.48 / 1.5 / 4.8 / 15; max 16
- Cutt off (mm): 0.08 / 0.25 / 0.8 / 2.5 / 8
- Velocidad de escaneo (mm/s): 0.15/ 0.5 / 1.0

En este caso en particular se configuró el perfilómetro para obtener mediciones de  $320\mu\text{m}/0.04\mu\text{m}$  de resolución. La longitud transversal de barrido fue de 4.8 mm, un filtrado con

cutt off de 0.8 mm y la velocidad de escaneo fue de 0.5 mm/s. Se utilizaron 9 lijas con rugosidades entre 220 y 2500.

### A.3 Resultados



**Figura A.14:** Parámetros de rugosidad para las 9 lijas utilizadas, obtenidos bajo norma.

La Fig. A.14 muestran los valores de Ra, Rq, Rp, Rv, Rt y RSm para cada una de las 9 lijas medidas. En general se observan en todos los parámetros un comportamiento decreciente de estos parámetros con la granulometría de las lijas. La medición se repitió 5 veces para todos los casos.