



Universidad de Salamanca
Instituto de Neurociencias de Castilla y León

CODIFICACIÓN DE PATRONES COMPLEJOS E HISTORIA DE ESTIMULACIÓN EN EL COLÍCULO INFERIOR

Tesis presentada por

Blanca Edilma Niño Aguillón

Para optar al Grado de Doctor en Neurociencias por la Universidad
de Salamanca

Directores:

Dr. Manuel Sánchez Malmierca

Dr. Ángel F. Porteros Herrero

Salamanca, Junio 2015

MANUEL SÁNCHEZ MALMIERCA, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y PATOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA Y

ÁNGEL F. PORTEROS HERRERO, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y PATOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA.

CERTIFICAN

Que la tesis doctoral titulada:

CODIFICACIÓN DE PATRONES COMPLEJOS E HISTORIA DE ESTIMULACIÓN EN EL COLÍCULO INFERIOR

Ha sido redactada en español y describe el trabajo de investigación realizado por **Dña. Blanca Edilma Niño Aguilón** bajo nuestra dirección durante los últimos 4 años.

La memoria de este estudio recoge un análisis detallado y exhaustivo que aporta evidencias que apoyan el modelo de codificación predicativa a nivel celular en el colícuo inferior de la rata anestesiada. Los datos presentados en esta memoria constituyen una aportación original y han permitido un avance significativo en el conocimiento de la detección y codificación de la novedad.

Por todo ello, consideramos que esta tesis reúne la calidad y rigor científicos necesarios para que sea defendida en la Universidad de Salamanca como requisito para que Dña. Blanca Edilma Niño Aguilón opte al grado de 'Doctor' por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, firmamos el presente certificado,

Dr. Manuel Sánchez Malmierca

Dr. Ángel F. Porteros Herrero

Salamanca, 3 de Junio de 2015.

Dedico esta tesis a mis amados padres Aracelly y José Flaminio, a mi amado Rosario y a mis amados hermanos: Arny, Abe y Oskar. “A voy la fonde el vero amore inesauribile, que altro non é che il desiderio inevitabile di accompagnarmi, proteggermi, aiutarmi a sollevare i miei pesi e darmi la libertà per essere quello che io sono”.

'Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas'

María Salomea Skłodowska Curie

'A scientist in his laboratory is not a mere technician: he is also a child confronting natural phenomena that impress him as though they were fairy tales'

Marie Curie

'Uno científico nel suo laboratorio non é solamente un tecnico: é un bambino posto dinanzi a fenomeni naturali che lo impressionano come in un racconto di fantasia'

Mme. Marie Curie

'Ένας επιστήμονας στο εργαστήριο του δεν είναι απλώς ένας επιστήμονας: είναι ένα παιδί μπροστά σε φυσικά φαινόμενα που τον εντυπωσιάζουν όπως ακριβώς ένα μαγικό παραμύθι'.

Μαρία Κιουρί

一名科学家在他的实验室中不单纯是技术员，他还是一个面对自然现象的孩子，而这些现象就像神话一样令他印象深刻。

'Un savant dans son laboratoire n'est pas seulement un technicien: c'est aussi un enfant placé en face de phénomènes naturels qui l'impressionnent comme un conte de fées'.

Madame Marie Curie

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos otorgados por la Unión Europea (EUI2009-04083), el Ministerio Español de Ciencia e Innovación (BFU2009-07286, BFU2013- 43608-P), la Junta de Castilla y León (SA343U14) y la Universidad de Salamanca (Programa 1, 2014: KAQJ) al Dr. Manuel Sánchez Malmierca.



UNIVERSIDAD
DE SALAMANCA

Agradecimientos

Agradecimientos

"Cuando bebas agua recuerda la fuente"

Proverbio chino

Deseo agradecer a una serie de personas, acontecimientos, circunstancias y fuerzas celestiales que pusieron cada cosa en su lugar, y permitieron que pudiera dar lo mejor de mí en la planificación, experimentación, realización y conclusión de esta tesis doctoral.

En el ámbito académico agradezco al Dr. Manuel Sánchez Malmierca, por el periodo de financiación económica, por la oportunidad que me brindó de estar en su laboratorio y aprender las técnicas que allí se desarrollan, al igual que la oportunidad de asistir a congresos internacionales y por permitirme pasar mis últimos meses en la oficina reservada para los postdoctorales; al Dr. Ángel F. Porteros Herrero por su intervención y mediación en la finalización de esta tesis; a los miembros del laboratorio de neurofisiología de la audición de una manera especial a Javier Nieto por el desarrollo de las plantillas de visualización y análisis de datos que ha desarrollado para el laboratorio.

Quiero agradecer al Dr. Carles Escera por proponernos y motivarnos a usar secuencias complejas de estimulación y después ayudarnos con la interpretación de los resultados; también toda mi gratitud por haberme financiado unos meses de mi investigación y quiero agradecer de una manera muy especial a los miembros de su laboratorio porque me proporcionaron los artículos científicos que me permitían contextualizar los resultados.

Quiero agradecer al Dr. Jonathan Fritz *Thank you very much for giving me a day of your time for me to show the results of experiments. His time was enough to motivate me to make new experiments allowed as you said polishing the results.*

Agradecimientos

Quiero agradecer al Dr. Itsván Winkler *Thank you very much for motivating us to use the paradigm of omission and for his help with the interpretation of results.*

Quiero agradecer de una manera muy especial al Dr. Monty Escabi por toda su enorme ayuda cuando implementaba el laboratorio, por proponerme hacer los experimentos con los STRFs, por su generosidad al recibirme en su laboratorio y su casa y por enseñarme a entender e interpretar los resultados.

Quiero agradecer a la Dra. Heather Red y al Dr. James Chrobak *Thank you very much for your generosity in welcoming into your home.*

Quiero agradecer de una manera muy especial a la Dra. Sabine Grimm por enseñarme, corregirme y ayudarme a ver mis errores en la escritura de un artículo.

Quiero agradecer a la Dra. Raquel Rodríguez, por las veces en que me recibió en su oficina y me animo a continuar con este proyecto.

Quiero agradecer a la Dra. Arantxa Tabernero y al Dr. Enrique López Poveda quienes me mostraron el lado humano de la ciencia, aun desconociendo el entorno y su realidad, sus palabras siempre fueron agentes motivadores y esperanzadores.

Quiero agradecer al Dr. Enrique Saldaña y los miembros de su laboratorio Marcelo y Emmanuel por su disposición, constancia y gentileza al ayudarme y regalarme parte de su tiempo para enseñarme sobre el colículo inferior y las técnicas histológicas.

Quiero agradecer a Nacho Plaza por su disponibilidad y ayuda al hacer algunos de los cortes histológicos.

Agradecimientos

Quiero agradecer a cada uno de los miembros del Instituto de Neurociencias de Castilla y León porque siempre fueron generosos al regalarme una sonrisa e incluso pimientos hechos en sus casas como símbolo de acogida.

En el ámbito personal mi enorme gratitud para Rosario Iodice: *A te che sei semplicemente sei sostanza dei giorni miei, a te che sei essenzialmente sei sostanza dei sogni miei.*

Mi enorme gratitud para con mi familia (Aracelly, José Flaminio, Arny, Abe, Oskar y Jennifer) que incondicionalmente me han apoyado económica y espiritualmente; gracias por creer en mí y por recordarme que la fuerza no viene de la capacidad corporal o del poder de una posición jerárquica, sino de la voluntad y la grandeza del alma.

Y finalmente agradezco a los nuevos amigos que Salamanca me regalo: Maria Koutentaki, Daina y Paco, Sergej y Frauke, Tao y Xi, Erin y a mis viejos amigos Yulime, Paola, Albino, por su incondicionalidad y cariño y sería imposible finalizar si expresar mi total gratitud para él más fiel de mis amigos el que me regalo su fuerza cuando las mías se habían agotado.

Índice

Resumen	1
Abreviaturas	2
Introducción	5
Potencial de disparidad	8
Adaptación específica a estímulos	10
Codificación de la regularidad	14
Codificación predictiva y respuesta a la omisión de estímulos.....	15
Hipótesis	20
Objetivos de la investigación.....	21
Materiales y Métodos Generales	22
Procedimiento quirúrgico	22
Estimulo acústico y registro electrofisiológico.....	24
Verificación histológica y localización de los registros.....	28
Codificación de Secuencias Complejas en el colículo inferior de la rata Anestesiada	30
Paradigma <i>oddball</i>	30
Secuencias complejas.....	32
Secuencia con patrón de alternancia	35
Secuencia con patrón de estímulos con regularidad global y regularidad local y regularidad de nivel	36
Codificación de regularidades complejas en el colículo inferior	42
Las neuronas del colículo inferior muestran SSA	42
Las neuronas del colículo inferior son sensibles a secuencias con patrones de alternancia.....	44
Las neuronas del colículo inferior son sensibles a la regularidad de estímulos	44

Las neuronas del colículo inferior responden de manera diferencial frente a secuencias con sonidos aleatorios y periódicos	49
Las neuronas del colículo inferior son sensibles a la ruptura de la regularidad de estímulo.....	51
Tipos neuronales sensibles a secuencias de patrón de alternancia	54
Otras propiedades fisiológicas y morfológicas neuronales de las neuronas sensibles a secuencias de patrón de alternancia	59
Respuestas neuronales del colículo inferior a patrones de estímulos con regularidad global y regularidad local.....	61
Respuestas neuronales del colículo inferior a secuencias con regularidades de nivel	66
Evidencia de Respuestas de las Neuronas del Colículo Inferior de la Rata Anestesiada a Omisiones de Estímulos	72
Paradigma de omisión de estímulos	72
Técnica de enfriamiento y desactivación cortical	73
Análisis de datos.....	75
Respuesta de neuronas del colículo inferior a omisiones de estímulos	80
Propiedades generales de la respuesta de las neuronas omisión	81
Comparación entre las respuestas al sonido y a la omisión.....	87
Las respuestas a la omisión del sonido en el colículo inferior se heredan desde la corteza auditiva	92
Discusión	98
Conclusiones.....	106
Referencias.....	107

Listado de Figuras

Figura 1.	Núcleos de la vía auditiva y su organización tonotópica.	7
Figure 2.	Registros de MMN.	10
Figura 3.	Ejemplo de respuestas SSA promedio a las frecuencias f1 y f2 en cada una de las dos secuencias.	11
Figura 4.	El MMN interpretarse en términos de codificación predictiva.	17
Figure 5.	Ilustración del FRA de una neurona del colículo inferior con sus componentes.	27
Figura 6.	Esquema de una sección frontal del colículo inferior.	29
Figura 7.	Ilustración esquemática del paradigma <i>oddball</i>	30
Figura 8.	Ilustración esquemática del patrón de alternancia.	35
Figure 9.	Ilustración esquemática de los patrones regularidad global y regularidad local y regularidad de nivel.	37
Figura 10.	Esquemática ilustración de los índices.	40
Figura 11.	Análisis de la adaptación a nivel población para las neuronas del colículo inferior.	43
Figura 12.	Ejemplos de respuesta de dos neuronas a secuencia con patrón de alternancia.	47

Listado de Figuras

Figura 13.	Diagrama de dispersión que correlaciona respuestas neuronales evocadas frente a secuencias periódicas y aleatorias.	50
Figura 14.	Diagramas de dispersión donde se muestra la sensibilidad a la ruptura de la regularidad.	52
Figura 15.	Gráfico de dispersión de las respuestas neuronales.	55
Figura 16.	Diagrama de cajas donde se muestran las relaciones.	58
Figura 17.	Gráfico de dispersión de las respuestas neuronales.	60
Figura 18.	Ejemplo de Respuesta a secuencia regularidad local y regularidad global	63
Figura 19.	Diagramas de dispersión respuestas neuronales a patrón regularidad global y regularidad local.	66
Figura 20.	Ejemplo de Respuesta a secuencia con regularidad de nivel.	68
Figura 21.	Diagramas de dispersión de respuestas neuronales a patrón regularidad de nivel.	71
Figura 22.	Ilustración esquemática del paradigma de omisión de estímulo.	72
Figura 23.	Sistema de enfriamiento cortical.	74
Figura 24.	Montaje del sistema de enfriamiento cortical en un animal experimental.	75
Figura 25.	Patrones de respuesta temporal para neuronas omisión.	82
Figura 26.	Respuestas evocadas para los estímulos sonido y omisiones.	85

Listado de Figuras

Figura 27.	Combinación frecuencia/intensidad en respuestas omisión.	86
Figura 28.	Característica de las respuestas de las neuronas omisión.	88
Figura 29.	Clasificación de diferencia de señal (DS).	92
Figura 30.	Efectos antes, durante y después de la desactivación cortical en las neuronas del colículo inferior.	94
Figura 31.	Efecto de la desactivación cortical en las respuestas de las neuronas omisión del colículo inferior.	97

Resumen

Resumen

El objetivo de esta tesis doctoral fue investigar los mecanismos a nivel celular de la detección y codificación de la novedad utilizando patrones de regularidades complejas y secuencias de omisión de sonidos. Para ello hemos realizado registros electrofisiológicos de unidades neuronales aisladas extracelularmente en el colículo inferior de ratas anestesiadas. Los experimentos han sido realizados utilizando la secuencia de estimulación simple (*paradigma oddball*) y secuencias de estimulación complejas (*patrón de alternancia, regularidad global y regularidad local, y regularidad de nivel, paradigma de omisión de sonidos*), que evalúan en primer lugar la adaptación específica a un estímulo, en segundo lugar la capacidad de asociar los sonidos no adyacentes dentro de la estructura más grande de una secuencia y en tercer lugar la capacidad de respuesta neuronal que no necesariamente está condicionada por un estímulo físico entrante.

Los datos de esta investigación no pueden ser explicados puramente mediante un simple cambio global en la excitabilidad neuronal, por el contrario nuestros resultados pueden ser reveladores de la existencia de un nuevo tipo de respuestas que no se pueden explicar simplemente por la SSA y que sugieren una verdadera detección de la novedad auditiva.

Por otra parte, hemos encontrado que al desactivar la corteza auditiva mientras registrábamos en el colículo inferior la generación o el mantenimiento de la respuesta a la omisión es totalmente abolida. Estos hallazgos confirman el modelo de codificación predictiva propuesto por Friston (2003) y que está organizado jerárquicamente.

Abreviaturas

Abreviaturas

ABR	Auditory Brainstem Response (potenciales evocados auditivos del tronco encefálico).
A/D	Analógico / digital
AFR	Tasa de disparo promedio
AUC	Área bajo la curva
BF	Best Frequency (mejor frecuencia)
CA	Corteza auditiva
CDIC	Corteza dorsal colículo inferior
CE	Control esperado
CI	Control inesperado
CLCI	Corteza lateral colículo inferior
CO₂	Dióxido de carbono
CRCI	Corteza rostral colículo inferior
CSI	Comun Specific Index (índice común de adaptación)
CSDF	Baseline-Corrected-SDF (densidad de espigas corregida)
D/A	Digital / analógico
dB	Decibelio
DT	Duración de tono / estímulo
DS	Diferencia de señal

E	Esperado
EEG	Electroencefalograma
FIR	Respuesta de impulsos finitos
FRA	Frequency Response Area (área de respuesta de frecuencia)
Hz	Herzio
I	Inesperado
INE	Índice Normalizado Esperado
INI	Índice Normalizado Inesperado
IRP	Índice de Reconocimiento de Patrón
ISI	InterStimulus Interval (intervalo entre estímulos)
M	Molar
MMN	Mismatch Negativity (potencial de disparidad)
NaCl	Cloruro de sodio
NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio
NCCI	Núcleo central colículo inferior
PSTH	Histogramas de tiempo peri-estímulo
pH	Medida de acidez o alcalinidad
ROC	Receiver Operating Characteristic (característica operativa del receptor)
SDF	Spike Density Function (función de densidad de espigas)
SFR	Disparo espontaneo

Spk/s	Espigas por estímulo
SPL	Nivel de presión sonora
SSA	Stimulus Specific Adaptation (adaptación específica a estímulos)
TDT	Miropcesador funcional TDT RX6 (Tucker-Davis Technologies)
T_o	Inicio ventana de tiempo
W	Ancho de ventana
WPI	World Precision Instruments (instrumento de precisión)
°C	Grado centígrado

Introducción

Introducción

La investigación en neurociencia de la audición es necesaria para entender la fisiología del sistema auditivo en humanos, así como para determinar las causas y el tratamiento de las distintas patologías que conducen a la sordera y otros problemas auditivos tales como la epilepsia audiogénica, acúfenos, etc., (Malmierca, 2003, 2015). En este sentido podría decirse que la investigación del sistema nervioso auditivo en animales es trascendental porque permite establecer, desarrollar y evaluar métodos terapéuticos que eventualmente se puedan aplicar a la clínica. Además, e igualmente substancial, la investigación en audición persigue conocer y concebir los procesos básicos de la percepción de los sonidos, de manera que poder detectar y determinar la presencia y origen de un sonido puede ser trascendental para la supervivencia.

Antes de hacer una introducción detallada sobre los objetivos de nuestra tesis doctoral, conviene pormenorizar que el estímulo para el cerebro auditivo son los sonidos. Por ello, debemos mencionar que el sonido es una onda de presión que se desplaza a través del medio y que conlleva la vibración de las partículas del mismo. El sonido tiene dos propiedades físicas fundamentales: frecuencia e intensidad. La frecuencia es el número de veces que una partícula oscila por unidad de tiempo cuando es sometida a una onda de presión, y por tanto su unidad de medida es el herzio (Hz), donde, un Hz es una oscilación completa o un ciclo por cada segundo. La intensidad es la energía o potencia acústica que transporta el sonido mediante su onda sonora y es proporcional a la amplitud del desplazamiento de las partículas del medio a través del cual se propaga.

En la naturaleza, los estímulos sonoros están formados por una mezcla de diferentes frecuencias e intensidades, de forma que se genera un conjunto de

ondas complejas y por lo tanto, las fluctuaciones de presión que ocurren a lo largo tiempo serán periódicas y/o aleatorias.

La percepción del mundo de los sonidos comienza con la transformación que sufren las ondas sonoras por los pabellones y los conductos auditivos externos. Posteriormente, esta transformación continúa con la transducción mecanoeléctrica que se produce en la cóclea, donde el sonido se transforma en patrones de descarga (impulsos nerviosos) que van a las fibras del nervio auditivo. Estos patrones de descarga se transmiten al sistema nervioso central, donde la información sonora se codifica en ráfagas de potenciales de acción para ser redistribuida y transformada por una serie de vías paralelas que emergen en el primer centro de procesamiento neuronal del sonido que son los núcleos cocleares y que en último término conducen la información a la corteza auditiva.

Al igual de lo que ocurre en otros sistemas sensoriales, la vía auditiva (Fig. 1), está constituida por varios eslabones nucleares que forman una cadena interconectada en sentido ascendente y descendente de núcleos nerviosos. En esta serie de eslabones, la primera estación de relevo en la vía auditiva está formada por los núcleos cocleares, a partir de los cuales se generan una serie de canales de información paralelos en sentido ascendente hasta la corteza cerebral donde terminan directamente, o indirectamente haciendo sinapsis intermedias en el complejo olivar superior, núcleos del lemnisco lateral y en el colículo inferior. Así pues, el colículo inferior es una estación de relevo obligatoria a nivel troncoencefálico, para la mayor parte de la información auditiva que va hacia el tálamo (Oliver y Huerta, 1992; Pollak et al., 2002; Malmierca, 2003; Morest y Oliver, 1984). Seguidamente, el cuerpo geniculado medial que se encuentra localizado en la porción posterolateral del tálamo, y por tanto es la estructura auditiva talámica. Desde el cuerpo geniculado medial, la información auditiva se redirige al lóbulo temporal donde se encuentra la corteza auditiva.

A través de todas estas estaciones de relevo nerviosas, las señales auditivas desde el nervio coclear se transmiten, procesan y envían a la corteza auditiva en lo que constituye la vía auditiva ascendente. Paralela a esta vía ascendente existe una vía auditiva descendente que va a determinar mecanismos de retroalimentación que afectan a la mayoría de los núcleos de la vía y al receptor auditivo.

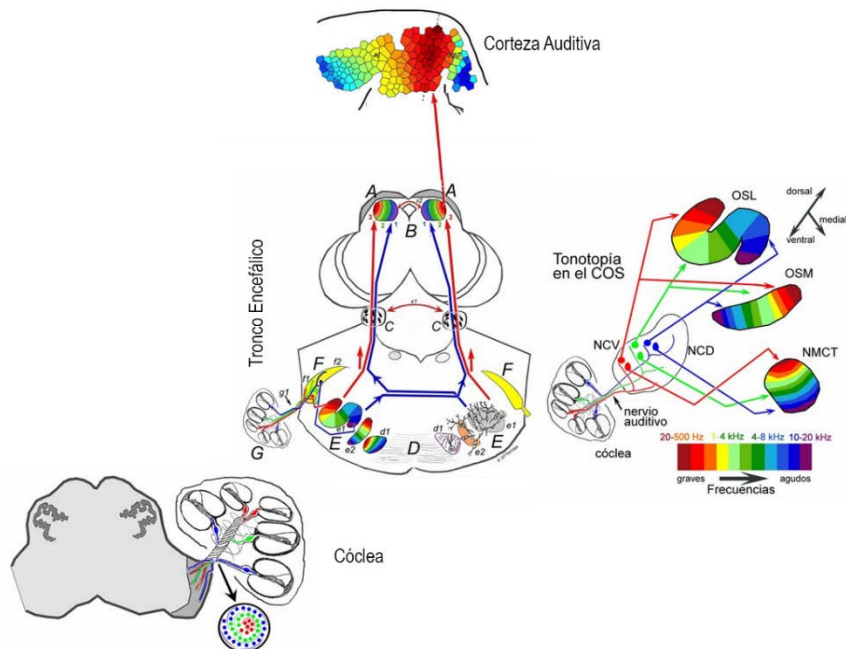


Figura 1. Núcleos de la vía auditiva y su organización tonotópica. Corteza auditiva; tronco encefálico: A, colículo inferior; B, acuoducto de Silvio; C, núcleo del lemnisco lateral, D, cuerpo trapezoide; E complejo olivar superior (OSL, oliva lateral superior; OSM, oliva superior medial; NMCT, núcleo medial del cuerpo trapezoide); F, núcleos cocleares (NCV, núcleo coclear ventral; NCD, núcleo coclear dorsal); cóclea. Figura modificada de *Journey into the world of Hearing* authors Pablo Gil-Loyzaaga (1985).

Potencial de disparidad

Un potencial evocado auditivo endógeno es aquel que se obtiene cuando se escuchan pasivamente estímulos sonoros discrepantes (de baja probabilidad) entremezclados aleatoriamente en una secuencia de estímulos repetitivos. A diferencia de los potenciales evocados auditivos exógenos, los componentes endógenos tienen como característica principal la independencia de las características físicas de los estímulos que se utilizan para obtenerlos, así como de los parámetros de la estimulación. Por tanto, se considera que los componentes endógenos se evocan cuando los estímulos presentados activan alguna operación de procesamiento cerebral relacionada con el contenido informacional de los estímulos (Picton y Hillyard, 1988). En consecuencia, los potenciales evocados endógenos podrían utilizarse como indicadores de procesos cognitivos subyacentes (Hillyard y Picton, 1987). Un componente endógeno de potenciales evocados es el llamado potencial de disparidad o *mismatch negativity* (en la terminología anglosajona, MMN), fue descrito por primera vez por Näätänen et al., 1978 como un potencial que se obtenía cuando estímulos auditivos discrepantes (de baja probabilidad) eran presentados aleatoriamente en una serie de estímulos sonoros o repetitivos que el sujeto no debía atender activamente.

En sus experimentos se presentaron a los sujetos una serie de estímulos estándar de 1000 Hz de frecuencia, que fueron ocasionalmente reemplazados por estímulos discrepantes de 1002, 1004, 1008, 1016 ó 1032 Hz, respectivamente. Además, se pidió a los sujetos que se concentraran en la lectura de un libro e ignoraran los sonidos para distraerles y ver si el MMN tenía algún componente voluntario, o por el contrario era un fenómeno automático. Los resultados así obtenidos mostraron que los potenciales evocados para los estímulos discrepantes de 1002, 1004 y 1008 Hz eran idénticos a los evocados

por los estímulos estándar, mientras que los potenciales evocados por los estímulos discrepantes de 1016 y 1032 Hz presentaban un segundo pico negativo situado en torno a los 150- 200 ms (Fig. 2). Dado que, tanto los estímulos estándar como los discrepantes tenían características físicas idénticas: igual duración, intensidad, y prácticamente misma frecuencia, Näätänen tuvo la idea de realizar una simple operación aritmética de sustracción de manera que restó el potencial evocado por el estímulo estándar del potencial evocado por el estímulo discrepante. De esta manera, los componentes exógenos (P1, N1 y P2), de características similares, se cancelaban, mientras que aparecía un componente que solamente era evocado por el estímulo discrepante, y podía ser representado y analizado con mayor claridad en la '*curva de diferencia entre los estímulos*' resultante (Fig. 2, derecha), ese componente se correlaciona con el MMN.

Así mismo, se observó que no solamente manipulando la frecuencia del sonido generaba MMN; sino que cualquier otra modificación en algún otro componente físico de los estímulos discrepantes, en relación a los estímulos estándar, era suficiente para evocar un MMN. Así, se han obtenido MMN por ligeras variaciones en el tono (Näätänen et al., 1978; Sams et al., 1985b; Serra et al., 1996), intensidad (Näätänen et al., 1989a), duración (Näätänen et al., 1989b), o localización espacial (Paavilainen et al., 1989) del estímulo discrepante. También se han utilizado para obtener MMN variaciones en los parámetros físicos de la estimulación, y en el ritmo de presentación de los estímulos (Ford y Hillyard, 1981; Nordby et al., 1988), incluso se han podido obtener MMN utilizando sonidos más complejos, tales como fonemas (Aaltonen et al., 1987; Sams et al., 1990), o patrones de sonido, formados por varios segmentos sonoros consecutivos de diferente tono (Saarinen et al., 1992; Schröger et al., 1992).

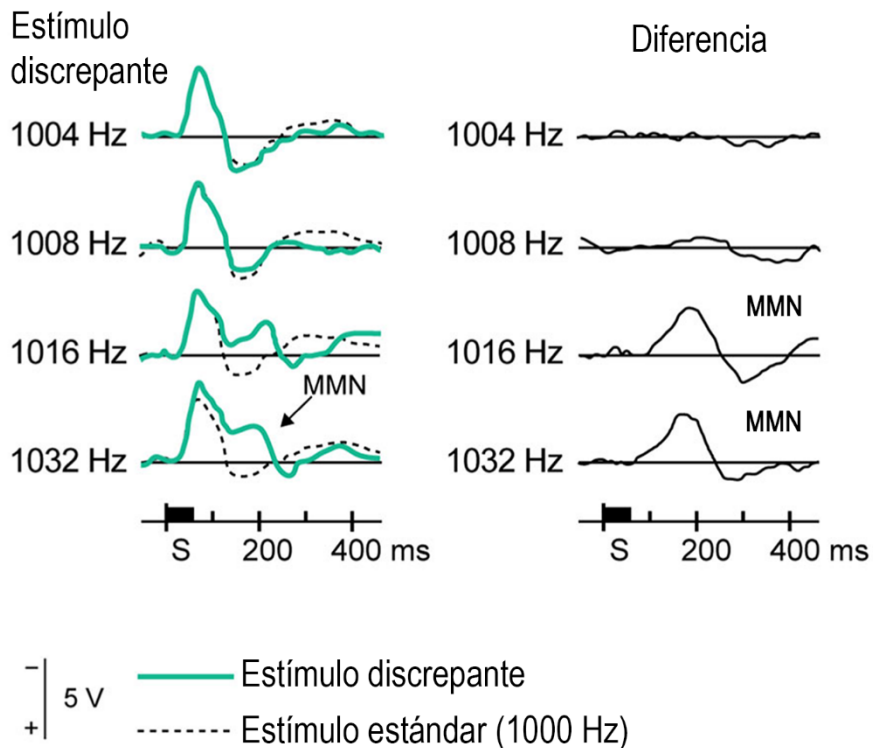


Figure 2. Registros de MMN. Columna de la izquierda, corresponde a los potenciales evocados por estímulo estándar (80%, línea discontinua en negro), y por el estímulo discrepante (20% línea verde). Columna de la derecha, corresponde a la curva de diferencia que se obtiene al sustraer el potencial evocado por el estímulo estándar del potencial evocado por el estímulo discrepante. Figura modificada de Näätänen, 2007.

Adaptación específica a estímulos

La adaptación específica a estímulos (*Stimulus-Specific Adaptation* en la terminología anglosajona, SSA) fue descrita por primera vez en la corteza visual por Movshon y Lennie, en 1979. La SSA es la reducción en la respuesta a un estímulo común que no se generaliza, o sólo parcialmente, a otros estímulos discrepantes (Ulanovsky et al., 2003). La SSA se evalúa mediante la comparación de las respuestas de un estímulo que es presentado de manera regular y

repetitiva (estándar, 90% de probabilidad) entremezclado con un estímulo discrepante de baja probabilidad (Fig. 3; 10% de probabilidad).

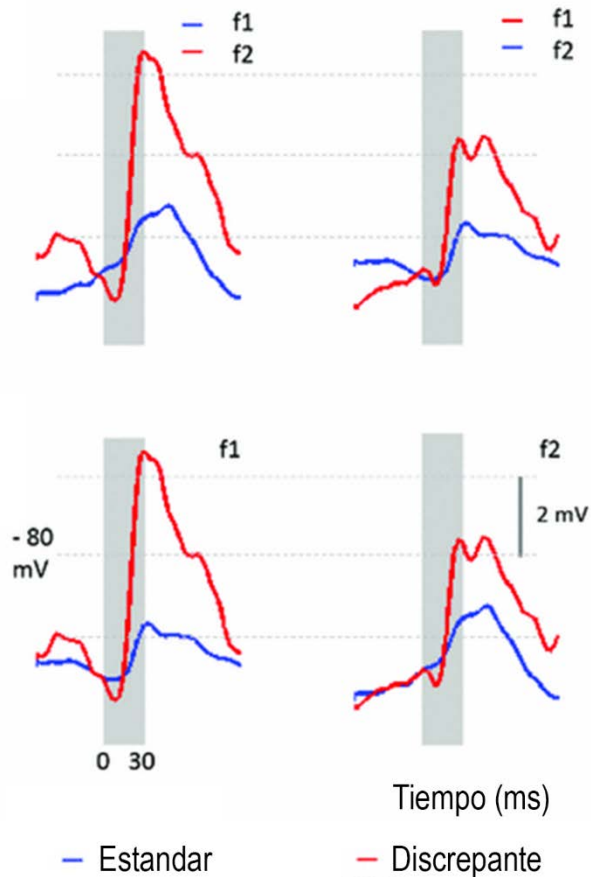


Figura 3. Ejemplo de respuestas SSA promedio a las frecuencias f_1 y f_2 en cada una de las dos secuencias. En ambas secuencias, las respuestas promedio evocados por la frecuencia estándar (trazo azul) fueron más pequeñas que las respuestas promedio evocados por la frecuencia discrepante (trazo roja). El tamaño de la SSA se define como la diferencia entre el promedio de respuesta a cada una de las dos frecuencias discrepantes (dibujado en rojo) y cuando estándar (dibujado en azul). Figura modificada de Nelken (2014).

Aunque la tendencia de algunas neuronas auditivas para responder con más fuerza a los sonidos discrepantes se conoce desde hace tiempo, el interés por este fenómeno tiene su renacimiento después de estudios realizados en la corteza auditiva del gato (Ulanovsky et al., 2003, 2004). A partir de este momento se correlaciona y se sugiere que la SSA comparte muchas características con el potencial evocado (MMN), que como hemos descrito previamente se relaciona con la detección de novedad contextual, y que puede estar vinculado a ciertos procesos de memoria y focalización de la atención. Sin embargo, la SSA es similar, pero ciertamente no es idéntica al MMN (Farley et al., 2010; Nelken y Ulanovsky, 2007; von der Behrens et al., 2009). Por otra parte, se ha demostrado que la SSA no es una propiedad emergente de manera exclusiva en las neuronas de la corteza auditiva, sino que por el contrario está presente a partir del nivel troncoencefálico del sistema auditivo, concretamente en el colículo inferior de un número de especies de mamíferos, incluyendo gatos, ratas, ratones, jerbos, macacos y murciélagos (Perez-Gonzalez et al., 2005; Anderson et al., 2009; Antunes et al., 2010; Bauerle et al., 2011; Fishman y Steinschneider, 2012; Malmierca et al., 2009; Taaseh et al., 2011; Thomas et al., 2012; Ulanovsky et al., 2003; Zhao et al., 2011), así como también en aves (Gutfreund 2012; Netser et al., 2011; Reches et al., 2010; Reches y Gutfreund, 2008). La SSA es una propiedad ubicua de las neuronas auditivas y por lo tanto es probable que desempeñe un papel importante en el procesamiento auditivo.

La SSA refleja cierta característica de sensibilidad en las respuestas sensoriales relativamente temprana para la secuencia de estímulos como un todo, en lugar de los estímulos individuales que componen la secuencia. Por lo tanto, la SSA propone la dependencia al contexto de las respuestas sensoriales de relieve (Nelken, 2014). La dependencia al contexto puede ser el resultado de muchos mecanismos diferentes. Por ejemplo, mecanismos que pueden incluir agotamiento de los recursos en la sinapsis entre las células ciliadas y el nervio

auditivo (Westerman and Smith, 1984) o la activación de canales de potasio somáticas (en el caso de la adaptación de contraste en la corteza visual, Sánchez-Vives et al., 2000).

Investigaciones realizadas por Yaron et al. (2012) sugieren que la SSA es sólo una manifestación de una sensibilidad exquisita al contexto que se exhibe en las neuronas de la corteza auditiva. Yaron et al. (2012) utilizaron el paradigma *oddball* con probabilidad fija para el estímulo discrepante, pero manipulan el orden de los sonidos en las secuencias. En una primera condición, ellos utilizan el mismo número de estímulos estándar entre dos estímulos discrepantes sucesivo (secuencias periódicas). En otra condición, los estímulos estándar y discrepante fueron entremezclados al azar (secuencias aleatorias). Aunque las probabilidades del tono eran las mismas en ambas condiciones, las respuestas a las secuencias periódicas tendían a ser más pequeñas que a las secuencias aleatorias, lo que sugiere que las respuestas corticales son sensibles a regularidades más allá de la probabilidad del tono.

La SSA es trascendental porque, entre otras cosas, está asociada a tareas de procesamiento sensorial tan importantes como la '*detección de sonidos novedosos*' (Bendixen et al., 2008; Bendixen y Schröger, 2008; Bendixen et al., 2007, SanMiguel et al., 2013). La '*detección de la novedad*' se utiliza a menudo cuando se estudian las respuestas a los estímulos que son verdaderamente novedosos (nunca antes experimentado) y estas respuestas al estímulo dependerá no sólo del estímulo actual, sino también de la historia pasada de la estimulación (Nelken, 2014). Si bien es cierto que el objeto de estudio de esta tesis no fue el estudio de la SSA, si basamos nuestra primera parte de la investigación a este fenómeno, dado que pueden tener importantes implicaciones funcionales para el procesamiento de los sonidos y el análisis de su escena auditiva.

Codificación de la regularidad

Investigaciones realizadas en animales demuestran que la tasa de respuesta de las neuronas sensoriales disminuye cuando se repite un estímulo de manera regular y repetitiva, pero aumenta de nuevo cuando es entremezclado con un estímulo discrepante (Ulanovsky et al., 2003). Tal aumento no se debe exclusivamente al proceso de adaptación sino que es también el resultado de un proceso genuino de detección de '*eventos discrepantes*' o '*novedad*' (Taaseh et al., 2011; Nelken y Ulanovsky, 2007). Prueba de ello, son las respuestas obtenidas en la corteza auditiva de ratas al hacer uso del modelo de adaptación de los canales de frecuencia estrechas, donde respuestas corticales a tonos discrepantes entremezclados en secuencias de tonos estándar son más grandes de lo esperado, lo que sugiere la presencia de una verdadera sensibilidad a la novedad en la corteza auditiva (Taaseh et al., 2011).

Por otra parte, esta sensibilidad ha sido atribuida como una característica exclusiva de las neuronas corticales, ya que se ha demostrado que las neuronas corticales son capaces del procesamiento de diversos tipos de regularidades complejas, como por ejemplo, regularidades estadísticas en sonidos naturales (Nelken et al., 1999), secuencias de sonidos periódicas vs. aleatorias (Yaron et al., 2012), tonos de la misma frecuencia en diferentes contextos (Hershenhoren et al., 2014), y bloques de sonido con diferentes espectros de frecuencias idénticas pero perfiles temporalmente invertidos (Gao et al., 2014).

Así pues uno de los objetivos de esta tesis doctoral es estudiar si existe alguna relación entre las neuronas que muestran SSA y la codificación de las regularidades complejas. Para responder a esta pregunta, hemos utilizado diferentes secuencias de sonidos las cuales se han configurado en diversos patrones de estimulación: '*patrón de alternancia*', '*regularidades local* y

regularidad global y *'regularidades de nivel'*. Estos patrones de secuencias se caracterizan porque poseen alteraciones y rupturas de la regularidad con diferentes grados de complejidad en forma de repeticiones. Como veremos en el apartado de resultados, nuestros datos aportan evidencias de la existencia de neuronas en el colículo inferior que muestran una respuesta diferencial a los patrones que no puede ser explicado puramente mediante un simple cambio global en la excitabilidad.

Codificación predictiva y respuesta a la omisión de estímulos

La codificación predictiva o inferencia jerárquica en el sistema nervioso, es una teoría general de la inferencia perceptiva (Friston, 2005) donde el cerebro es considerado como un sistema jerárquicamente organizado, en el que cada nivel se esfuerza por alcanzar un compromiso entre la información de los estímulos sensoriales ascendentes, proporcionados por el nivel inferior y las predicciones descendentes proporcionadas por el nivel superior (Mumford, 1992; Rao y Ballard, 1999; Friston, 2003). En pocas palabras, cuando un estímulo estándar se puede predecir con mayor precisión por la información descendente, se le asigna un peso menor a las influencias ascendentes y la capacidad de respuesta postsináptica a los estímulos sensoriales disminuye (Garrido et al., 2009, SanMiguel et al., 2013). Esta teoría se basa en la minimización del error de predicción donde, el error de predicción es la diferencia entre la entrada observada y la predictiva por el modelo generativo y las causas inferidas se reducen al mínimo a través de interacciones recurrentes entre los niveles de una jerarquía a fin de estimar la causa más probable de la entrada (Friston, 2003, 2005). En el caso de un error de predicción, es decir, cuando hay una discrepancia entre lo predecible y la entrada sensorial real, el sistema neural

implementa un modelo de ajuste (por ejemplo, por la plasticidad sináptica a corto plazo, Garrido et al., 2009). Por lo tanto, los niveles inferiores y superiores se comunican a través de vías recíprocas hasta que se suprime el error de predicción y las áreas corticales superiores optimizan la codificación (Friston, 2003).

La codificación predictiva abarca dos hipótesis distintas: la hipótesis de modelo de ajuste (aprendizaje perceptivo), la hipótesis de adaptación (conexiones sinápticas). La presentación repetitiva de patrones puede hacer más eficiente la supresión del error de predicción; lo que conlleva a una reducción en las respuestas evocadas durante la repetición y la aparición de una respuesta incrementada, cuando se presenta un estímulo discrepante (Friston, 2005; Baldeweg, 2006; Garrido et al., 2009). Así pues, en este contexto, el aumento de la conectividad intrínseca puede codificar aumentos progresivos en la precisión estimada de las predicciones descendentes, responsables de la supresión del error de predicción. Estos cambios podrían estar mediados por mecanismos de adaptación a los sonidos repetitivos. Los cambios en las conexiones ascendentes pueden reflejar cambios en la sensibilidad al error de predicción que se transmite a niveles superiores. Estos niveles superiores forman predicciones de manera que las conexiones descendentes pueden proporcionar orientación contextual a los niveles más bajos.

En resumen, el modelo de codificación predictiva proporciona un marco común para la adaptación y el modelo de ajuste. La codificación predictiva incorpora la actividad sináptica, la sensibilidad y la plasticidad en el mismo esquema de optimización. Esta interacción es importante porque la inferencia óptima requiere tanto la optimización de las representaciones neuronales, como de los cambios en la capacidad de respuesta y la eficiencia sináptica.

MMN interpretado en terminos de codificación predictiva

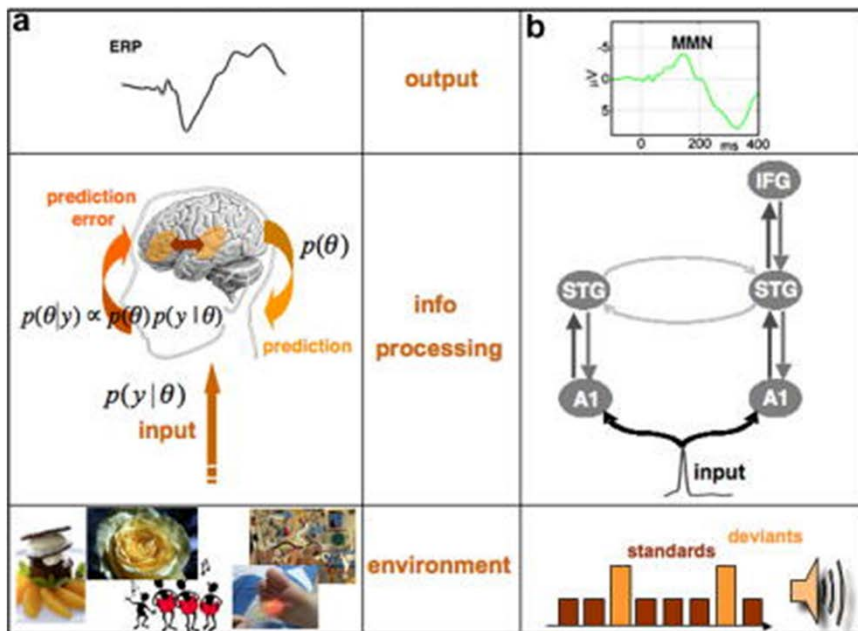


Figura 4. El MMN puede ser interpretado en términos de codificación predictiva. (a) esquema ilustrativo del marco general de la codificación predictiva como una explicación de ERP (b) El MMN, un ejemplo concreto y los mecanismos subyacentes. La hipótesis de ajuste de modelo explica la MMN como un marcador para la detección de error causado por una desviación de una regularidad aprendida. El MMN sería así el resultado de una comparación entre la información auditiva y un rastro de memoria de las predicciones descendentes. Mientras que en la codificación predictiva la repetición de los acontecimientos posteriores se ve reflejado en la supresión del error de predicción y la desaparición de la MMN (Friston, 2005; Baldeweg, 2006). Figura modificada de Garrido et al. (2009).

Además, se muestra cómo la detección de la novedad, la adaptación y el modelo de ajuste pueden ser entendidos como aspectos de la misma optimización perceptual. Así pues, la codificación predictiva reconcilia modelos aparentemente distintos de la MMN y ofrece un mecanismo neurobiológico para su generación, que incorpora tanto la adaptación como el modelo de ajuste (Fig. 4, Garrido et al. 2009).

En el apartado anterior hemos descrito como se produce un cambio en la tasa de respuesta de las neuronas en el colículo inferior de la rata cuando una secuencia repetitiva es entremezclada con un estímulo discrepante. Este cambio ha sido descrito cuando el estímulo discrepante varía uno y/o algunos de sus componentes físicos, pero aún no se ha descrito a nivel celular que ocurre con la respuesta cuando la desviación consiste específicamente en la ausencia de información sensorial en un punto en el tiempo donde se esperaba un estímulo auditivo particular. Una respuesta a un estímulo omitido abre un nuevo campo de investigación para estudiar cual es el mecanismo de almacenamiento temporal en el sistema nervioso debido a la ausencia de una entrada exógena.

Los resultados obtenidos en investigaciones adelantadas en humanos haciendo uso del paradigma de la omisión de estímulos proponen una variedad de explicaciones alternativas para la interpretación de estas respuestas, hay quienes afirman que no hay pruebas concluyentes para la interpretación de la respuesta como un proceso de huella-memoria (Näätänen et al., 1987). Sin embargo otros, afirman que con altas tasas de presentación la corteza no disminuye sus respuestas transitorias, pero si aumenta un tipo de actividad sostenida y las omisiones se producirían por desplazamiento de esta actividad sostenida (*'respuesta de rebote'*, May y Tiitinen, 2010). Otros por el contrario podrían demostrar que la omisión no se produce por esta razón, como por ejemplo Horvath et al. (2010). Finalmente, otros muestran que las respuestas de omisión solamente ocurren con las tasas de presentación, donde los estímulos sucesivos caen en la llamada ventana temporal de integración (estimados en humanos alrededor de 150 a 200 ms, Yabe et al., 1997).

El presente estudio busca identificar los mecanismos de predicción mediante la investigación de las respuestas electrofisiológicas a la omisión de un sonido y asegurarnos de que la actividad evocada durante la omisión no se limita a reflejar indicadores tardíos del procesamiento de la información auditiva anterior

(Bendixen et al., 2012). Con el fin de probar la generalidad del efecto obtenido se hace uso del paradigma de omisión de sonido, que se caracteriza por ser una secuencia en la que un tono regular y repetitivo es entremezclado con periodos de silencio con una probabilidad menor (10%). La ventaja de este tipo de secuencia reside en la posibilidad que se tiene para dar a conocer la actividad predictiva del sistema auditivo, dado que la actividad auditiva se puede observar sin ninguna entrada auditiva (Hughes et al., 2001; Rajj et al., 1997). Sin embargo, es necesario reconocer que a fecha de hoy no existen evidencias experimentales a nivel neuronal que demuestren la existencia de la teoría de codificación predictiva más allá de los planteamientos meramente hipotéticos.

Hipótesis y Objetivos

Hipótesis

Estudios previos han demostrado que muchas neuronas del colículo inferior de rata anestesiadas muestran una reducción en sus respuesta tras una estimulación simple y repetitiva (Pérez-González et al., 2005; Malmierca et al., 2009). Por ejemplo tras presentar una secuencia con un tono regular y repetitivo entremezclado con otro tono discrepante de menor probabilidad. Este fenómeno se denomina adaptación específica a los estímulos (SSA). La SSA se manifiesta en dichas neuronas y comparte numerosas características con el potencial de disparidad (MMN), que es un componente de los potenciales evocados relacionado con la detección de novedad contextual y que puede vincularse a ciertos procesos de memoria.

Así pues, nuestra hipótesis plantea que, de la misma manera que el colículo inferior tiene la capacidad de detectar secuencias simples y monótonas, también podría tener la capacidad de detectar y procesar escenas auditivas en contextos complejos, puesto que como hemos comentado en la instrucción general, el colículo inferior ocupa una posición privilegiada dentro de la vía auditiva como un centro integrador y de convergencia de la información de todos los centros auditivos inferiores con las proyecciones descendentes de la corteza auditiva (Malmierca, 2003, 2015).

Por todo ello, en nuestra tesis proponemos usar secuencias de estimulación complejas que se han utilizado comúnmente en experimentos psicofisiológicos con humanos. Estas secuencias han mostrado que a nivel cortical existe una alta capacidad en la detección, predicción y el procesamiento de la novedad. Específicamente estas secuencias incluyen el patrón de alternancia, el patrón regularidad global y regularidad local, el patrón regularidad de nivel y el paradigma de omisión de estímulos (Alain et al., 1994; Picton et al., 2000; Cornella et al., 2012; Paavilainen et al., 2013; Yabe et al., 1997). Así pues,

proponemos estudiar a nivel neuronal las respuestas a estas escenas auditivas complejas para demostrar o descartar si las neuronas del colículo inferior tienen la capacidad de procesar escenas auditivas en contextos más complejos como lo hacen las neuronas de la corteza auditiva.

Objetivos de la investigación

Teniendo en cuenta la hipótesis planteada, nuestra tesis plantea 2 objetivos generales:

- 1) Determinar la existencia de mecanismos de detección y codificación para cambios de características de presentación del sonido usando regularidades acústicas complejas en el colículo inferior.

- 2) Conocer los mecanismos neuronales de procesamiento que generan el substrato fisiológico de predicción en el colículo inferior y determinar si las respuestas neuronales de omisión se generan de *novo* a nivel subcortical (colículo inferior) o si, por el contrario, se heredan desde la corteza auditiva a través de la proyección corticocolicular.

Materiales y Métodos

Materiales y Métodos Generales

Procedimiento quirúrgico

Estos experimentos se realizaron con 71 ratas hembras adultas (*Rattus norvegicus*, Rj: *Long Evans*). Los animales pesaron entre 190 – 300 g en el momento de los experimentos de registro. El cuidado y la utilización de los animales empleados en este trabajo fueron aprobados, previamente, por el Comité de Bioética de la Universidad de Salamanca y siguieron, en todo momento, las pautas indicadas en la Directiva Europea (86/609/EEC, 2003/65/EC and 2010/63/EU) y la Legislación Española RD 1201/2005.

Para cada experimento, anestesiamos a los animales inicialmente utilizando una mezcla de [ketamina (105 mg/kg, i.p.) y xilacina (7 mg/kg, i.p.)]. Realizamos la cirugía y los experimentos en una cámara insonorizada y con aislamiento eléctrico.

Como paso previo a la sesión de cirugía y de registro neuronal, se midieron los potenciales evocados auditivos del tronco encefálico (*Auditory Brainstem Response* de sus siglas anglosajonas ABR, circuitos implementados por Niño-Aguillón BE) para comprobar y asegurarnos de que los animales tenían audición normal. Los estímulos para el ABR se generaron utilizando un equipo RX6 de la industria Tucker-Davis Technologies y consistieron en clics (duración de 5 ms, 1 ms rampa), que se han presentado con una tasa de repetición de 11/s, entregados en pasos de 10 dB ascendente de 10 a 90 dB SPL. Con el fin de obtener las señales ABR se colocaron electrodos subcutáneos en la zona de post-auricular superiores ipsilateral (-) y el vértice (+), un electrodo de tierra se insertó en la zona post-auricular superior contralateral. Las respuestas electrofisiológicas se amplificaron utilizando un bioamplificador WPI (*World Precision Instruments*) que proporcionaba un nivel de amplificación de 1000x de ganancia y un filtrado

de paso de banda (0.1 - 10 kHz). El amplificador está conectado a la placa del receptor a través de un cable de fibra óptica con el fin de reducir las interferencias eléctricas. La señal final fue filtrada a través de un filtro pasa bandas (500 - 3000 Hz), el número total de barridos por presentación se estableció en 500 veces.

A continuación, y una vez confirmado que los animales eran normo-oyentes, practicamos una traqueotomía y canulamos la tráquea para facilitar la respiración del animal. La respiración se mantuvo artificialmente (SAR - 830/P ventilador), y se monitorizó el nivel de CO₂ (Capstar - 100). Para favorecer la respiración y evitar la hipoxia, administramos sulfato de atropina por vía subcutánea (0.05 mg/kg: Braun Medical. Barcelona, España) para reducir la secreción bronquial. La temperatura corporal del animal se mantuvo a 38 °C ± 1 °C, por medio de una manta eléctrica controlada por un termostato y una sonda rectal (Malmierca et al., 2003). Suministramos un anestésico local (lidocaína: Guinama. Valencia, España) por vía subcutánea en la región auricular. Seguidamente, extirpamos los cartílagos auriculares para permitir una mejor fijación del animal en el aparato estereotáxico. Colocamos al animal en un aparato estereotáxico con las barras de los oídos modificadas, para permitir la estimulación acústica a través de ellas (Rees et al., 1997; Malmierca et al., 2003). Las barras modificadas, tienen la forma apropiada para acoplar en ellas los altavoces, están diseñadas de forma que encajan precisamente en el meato auditivo externo de la rata, sin provocar ningún daño a la membrana timpánica. Tras la colocación de las barras comprobamos, visualmente, la comunicación del meato auditivo con el exterior.

Posteriormente, realizamos una incisión longitudinal en la piel de la cabeza siguiendo la línea sagital y retiramos los músculos de la calota occipital y temporal. Después, realizamos una craneotomía a partir de dos trepanaciones efectuadas sobre la superficie cortical que cubre el colículo inferior (siguiendo coordenadas esterotáxicas según el atlas de Paxinos y Watson, 2005). Finalmente, procedimos a retirar la duramadre con unas pinzas y unas tijeras de

iridectomía. La corteza cerebral, que quedó expuesta, se irriga regularmente con suero salino (NaCl 0.9%) para evitar su desecación. Después de la preparación quirúrgica, los animales se mantienen anestesiados aplicando una inyección intraperitoneal de uretano (0,5 - 1 g/kg, Sigma-Aldrich Inc. St. Louis, MO, EE.UU., en una solución al 20%) suministrando dosis suplementarias cuando fue necesario. El uretano fue elegido como anestésico porque se conocen por estudios previamente hechos por otros laboratorios que sus efectos en varios aspectos de la actividad neural, incluyendo la inhibición y actividad espontánea, son menores que cuando se usan barbitúricos y otros fármacos anestésicos (Hara y Harris, 2002).

Estímulo acústico y registro electrofisiológico

Para el registro electrofisiológico extracelular de la respuesta de unidades neuronales aisladas individualmente, utilizamos electrodos de tungsteno recubiertos de vidrio (1–2 M Ω , Merrill y Ainsworth, 1972). Se hace avanzar el electrodo hasta alcanzar el colículo inferior utilizando un microposicionador piezoeléctrico con una resolución de 0.5 μ m (modelo Burleigh 6000, Burleigh Instruments Inc. Fishers, NY, EE.UU.), que controlamos de forma remota desde el exterior de la cabina. El ángulo de penetración del electrodo es de 20° con respecto al plano coronal. Una vez localizado el colículo inferior, realizamos registros extracelulares a unidades neuronales aisladas. La localización de las neuronas dentro del colículo inferior se basa en criterios electrofisiológicos de tonotopía y fidelidad de la respuesta (Palombi y Caspary, 1996; Rees et al., 1997; Nuding et al., 1999; Syka et al., 2000; Malmierca et al., 2003, 2008), así como en la verificación histológica posterior (v. i.).

Generamos los estímulos utilizando un diseño electrónico y programas informáticos hechos a medida a través de un miropcesador funcional TDT RX6 (Tucker-Davis Technologies. Gainesville, FL, EE.UU.), con características técnicas de dos canales de 24 bits, sigma-delta D/A y dos canales de 24 bits, sigma-delta A/D. Este dispositivo puede ejecutar velocidades de hasta 260 kHz para un ancho de banda de realización de 120 kHz. Los diseños electrónicos de los circuitos fueron implementados en Workbench y controlados desde la aplicación OpenEx (circuitos implementados por Niño-Aguillón BE). Los estímulos son presentados monoauralmente a través de un sistema acústico en campo cerrado (Rees et al., 1997; Malmierca et al., 2003, 2005), usando dos altavoces electroestáticos (Beyer DT - 770; 500 Hz - 40 kHz) equipados con un cono a medida y acoplados a un pequeño tubo (12 G) sellado en el oído (Malmierca et al., 2008, 2009) y controlados por dos módulos TDT ED1 (electrostatic Speaker Driver).

El sistema fue calibrado (La salida máxima del sistema TDT es una señal plana espectral entre 500 Hz y 40 kHz, $\sim 89 \pm 4.5$ dB) con una respuesta de impulsos finitos (FIR) a través de filtros inversos (implementados en un procesador TDT RX6 multifunción). La salida del sistema para cada oído es calibrada *in situ*, utilizando un micrófono de campo cerrado de $\frac{1}{4}$ de pulgada (modelo 4136; Brüel and Kjær) conectado a un analizador de señal dinámica (Photon +, Brüel & Kjær). El segundo y tercer componentes armónicos en la señal es ≤ 40 dB por debajo del nivel de la señal fundamental en el nivel de salida más alto (Malmierca et al., 2009). Se registran los potenciales de acción usando un amplificador diferencial WPI (DAM-80), estos potenciales de acción son amplificados 10x y filtrados con un filtro pasa banda (f_c , 500 Hz y 3 kHz, TDT PA - 5). Estos potenciales de acción y los tiempos de las espigas registradas y grabadas se envían a un ordenador, a través del procesador TDT RX6 multifunción a una velocidad de muestreo de 12 kHz. La señal fue enviada a

través de un cable de fibra óptica a la estación base RX6 para su posterior filtrado digital (300 - 5000 Hz) y la grabación de los datos se hace en este ordenador.

La generación de los estímulos y la visualización en línea de los datos se controlan por nuestro programa específico hecho con un software personalizado utilizando OpenEx. Los tiempos de las espigas se presentan como gráficos de puntos, ordenados según el parámetro acústico que nos interesaba visualizar y/o modificar durante el experimento.

Para localizar el colículo inferior empleamos ráfagas de ruido blanco y para realizar los mapas tonotópicos utilizamos tonos puros. Una vez aislada una neurona, la sintonización de frecuencia se determinó por medios audiovisuales mediante la presentación de tonos puros monoaurales de 100 ms de duración, con una rampa de 5 ms tiempo de subida/bajada (Hernández et al., 2005). Hemos presentado varias combinaciones aleatoriamente (494 tonos) de frecuencia e intensidad utilizando un procedimiento automatizado con 5 repeticiones de estímulo por cada intervalo de frecuencia que abarca el rango desde 0.5 hasta 40 kHz y 5 - 90 dB SPL en $1/6$ de octava y 10 dB de separación. Mediante esta combinación de frecuencias e intensidades capaces de evocar la respuesta a la neurona, determinamos el campo receptivo neuronal.

Posteriormente, representamos gráficamente su área de respuesta de frecuencia (Fig. 5, *Frequency Response Area* de sus siglas anglosajonas FRA), utilizamos el FRA de respuesta de cada neurona individual para calcular el umbral de respuesta y su mejor frecuencia (*Best Frequency* de sus siglas anglosajonas BF), que corresponde a la frecuencia que el sonido evoca con el nivel de intensidad mínima. La representación del FRA nos permitió escoger diferentes frecuencias para la evaluación de la adaptación específica a estímulos (*Stimulus Specific Adaptation* de sus siglas anglosajonas SSA) usando el paradigma *oddball* (Näätänen et al., 1992; Ulanovsky et al., 2003) y el análisis de la respuesta evocada usando estímulos con secuencias complejas.

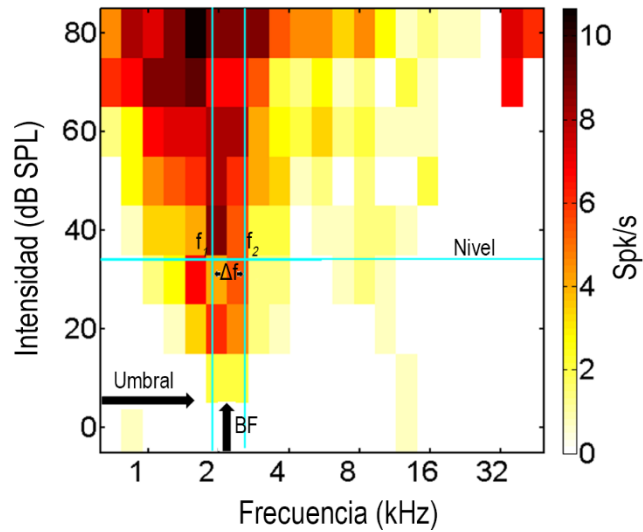


Figure 5. Ilustración del FRA de una neurona del colículo inferior con sus componentes. FRA (código de color, Spk/s), diferencia de frecuencia (Δf , líneas verticales en cian), frecuencias f_1 y f_2 para la construcción de los estímulos, umbral (intensidad mínima del estímulo que provoca respuesta), nivel (intensidad usada por encima del umbral) y BF (frecuencia capaz de provocar la respuesta neuronal con la menor intensidad de estimulación)

Verificación histológica y localización de los registros

Tras completar la recogida de datos de las unidades neuronales y al objeto de poder localizar y asignar las neuronas registradas a las diferentes divisiones citoarquitectónicas del colículo inferior realizamos lesiones electrolíticas (10 - 15 μ s de 10 - 15 s) utilizando el mismo electrodo de tungsteno. Al finalizar cada experimento administramos al animal una dosis letal de pentobarbital sódico (60 mg/kg, disuelto en suero salino) y lo perfundimos transcardialmente, utilizando como fijador una mezcla de paraformaldehído (Panreac Química S.A. Barcelona, España) al 1% y glutaraldehído (Sigma-Aldrich Inc. St. Louis. MO, EE. UU.) al 1% en tampón fosfato salino 0.1 M, previo lavado del árbol vascular con solución Ringer (8.5 g NaCl, 0.25 g KCl, 0.2 g NaHCO₃, por litro de agua destilada + Heparina al 1% a pH 6.9 y 37 °C). Posteriormente, crioprotegimos el cerebro mediante su inmersión en sacarosa al 30% (Panreac Química S.A. Barcelona, España) en tampón fosfato 0.1 M a 4 °C, durante 2 – 3 días.

Trascurrido este tiempo, cortamos el colículo inferior en secciones coronales de 40 ó 50 μ m de grosor con un micrótomo de congelación (MICROM HM 400, Heidelberg, Alemania) y finalmente utilizamos el método de Nissl y las teñimos con una solución de Violeta de Cresilo al 1% (Sigma-Aldrich Inc. St. Louis. MO, EE.UU.) para facilitar la identificación de los límites citoarquitectónicos. En algunos casos utilizamos la técnica inmuno-histoquímica con parvalbúminas alfa y beta que son proteínas de masa molecular baja, hidrosolubles y unidas al calcio, para identificar selectivamente proteínas específicas en la secciones de tejidos.

Los sitios de registros son localizados en secciones estándar a través de un atlas del cerebro de rata (Paxinos y Watson, 2005), y las unidades se asignaron a cada una de las cuatro divisiones principales del colículo inferior

(Malmierca y Young, 2014; Malmierca et al, 1993, 2011; Loftus et al, 2008): Corteza Lateral (CLCI), la corteza dorsal (CDIC), o núcleo central (NCCI). Estos datos histológicos, junto con las pruebas electrofisiológicas (gradiente tonotópico y latencia de la respuesta), nos permitieron confirmar la localización exacta de cada registro en cada una de las divisiones del colículo inferior (Fig. 6).

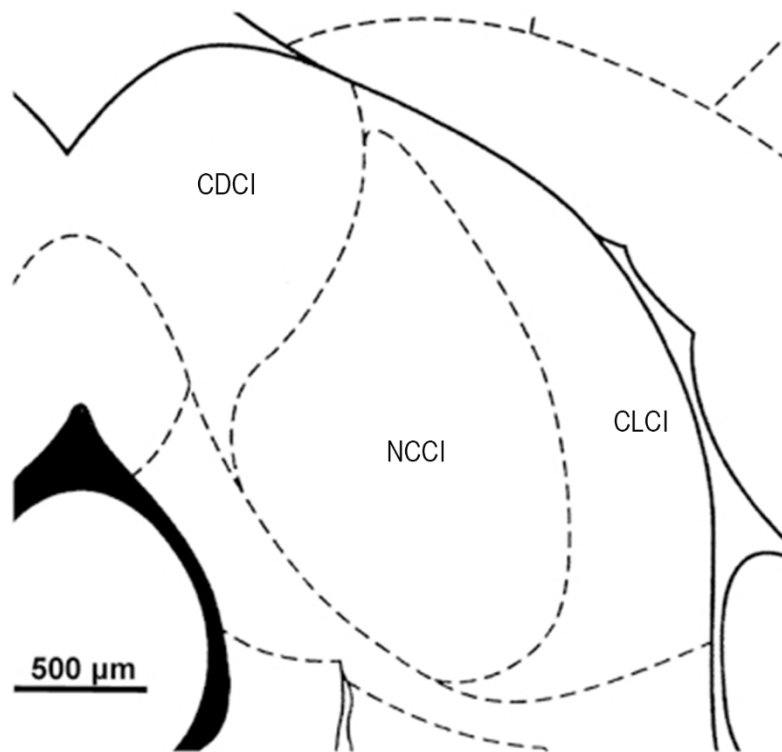


Figura 6. Esquema de una sección frontal del colículo inferior. El dibujo se basa en Paxinos y Watson, 2005.

Codificación de Regularidades Complejas

Codificación de Secuencias Complejas en el Colículo Inferior de la Rata Anestesiada

Paradigma *oddball* (Figura 7)

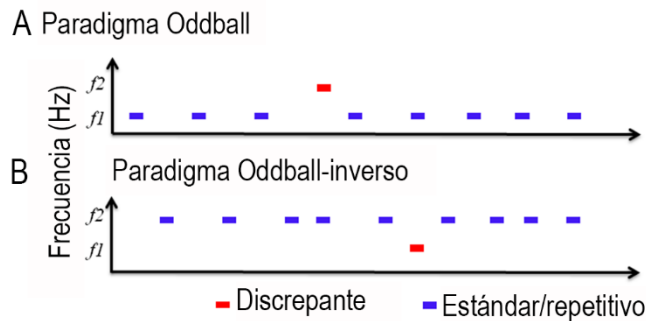


Figura 7. Ilustración esquemática del paradigma oddball. Secuencia de dos estímulos diferentes, tonos puros (f_1 y f_2) entremezclados aleatoriamente en una secuencia de estímulos repetitivo. A. La primera frecuencia (f_1) se presentó como el estándar (90% probabilidad, rectángulo azul); intercalados aleatoriamente con la segunda frecuencia (f_2) presenta como el estímulo discrepante (10% probabilidad, rectángulo rojo). B. Las frecuencias se intercambian de manera que lo que antes era discrepante ahora es estándar y viceversa.

En primer lugar, hemos registrado a todas nuestras neuronas empleando el paradigma *oddball*, para evaluar el grado de SSA (Fig. 7). El paradigma *oddball* es similar al utilizado para registrar potenciales de disparidad (*Mismatch Negativity* de sus siglas anglosajonas MMN), que es un potencial evocado auditivo endógeno que se obtiene cuando se escuchan pasivamente estímulos sonoros extraños (de baja probabilidad) entremezclados aleatoriamente en una

secuencia de estímulos repetitivo [para mayor revisión, ver estudios en humanos (Näätänen, 1992; Näätänen et al., 2007) y animales (Ulanovsky et al., 2003, 2004; Perez-González et al., 2005; Malmierca et al., 2009; Antunes et al., 2010; Escera y Malmierca, 2014)].

En síntesis, en el paradigma *oddball* presentamos dos secuencias de sonidos utilizando tonos puros para cada una de las frecuencias testeada (f_1 y f_2) a un nivel de 10 a 40 dB por encima del umbral. Ambas frecuencias (f_1 y f_2) deben estar dentro del campo receptivo de la respuesta excitadora de la neurona, que previamente hemos determinado para cada neurona. Cada secuencia está compuesta por 400 estímulos que contienen las frecuencias f_1 y f_2 , y presentadas de manera pseudoaleatoria con una tasa de repetición específica y donde variamos la probabilidad de ocurrencia (90%, estímulo estándar y 10% estímulo discrepante). Así mismo, es importante subrayar que una vez presentada una secuencia, las probabilidades relativas de f_1 y f_2 se invierten para demostrar que las respuestas obtenidas son independientes de la frecuencia física del sonido. Así pues, el número total de estímulos fue de 800 tonos.

El criterio de selección para cada una de las frecuencias es que el número de potenciales evocados sea igual o lo más similares posible para asegurarnos de que todas las diferencias en la respuesta se deben únicamente a cambios en las estadísticas globales de la secuencia y no a las diferencias de respuesta debido al sonido (Antunes et al., 2010). Por otro lado, debemos mencionar que las f_1 y f_2 que empleamos tenían un contraste de frecuencia de $\Delta f = 0.37$ ó 0.10 , donde $\Delta f = (f_2 - f_1)/(f_2 * f_1)^{1/2}$. (Ulanovsky et al., 2003, 2004; Malmierca et al., 2009). Estos valores son equivalentes a una separación de frecuencias en octavas de 0.526 y 0.141 respectivamente. Además, debemos también mencionar que los estímulos se presentaron con una tasa de repetición de 4 Hz, dado que se ha demostrado previamente que estas condiciones evocan una SSA muy significativa en el colículo inferior (Malmierca et al., 2009).

Para cuantificar el grado de SSA hemos calculado el índice CSI (*Comun Specific Index*, de sus siglas anglosajona CSI) a partir de las respuestas (espigas por estímulo, Spk/s) evocadas en la condición discrepante y en el índice de frecuencia específica $SI(f_i)$, donde $i = 1$ ó 2 . CSI y $SI(f_i)$ han sido utilizado en estudios anteriores (Ulanovsky et al., 2003, 2004; Malmierca et al., 2009; Antunes et al., 2010) y $SI(f_i)$ se define para cada frecuencia f_i como $SI(f_i) = [d(f_i) - s(f_i)]/[d(f_i) + s(f_i)]$ donde $d(f_i)$ y $s(f_i)$ son respuestas a la frecuencia f_i cuando f_i era discrepante o estándar, respectivamente, mientras que CSI se define como $CSI = [d(f_1) + d(f_2) - s(f_1) - s(f_2)]/[d(f_1) + d(f_2) + s(f_1) + s(f_2)]$.

Estos índices reflejan la medida en que la respuesta de una neurona se suprime o incrementa al estímulo estándar en relación a la respuesta del estímulo discrepante. El CSI varía entre -1 hasta 1, donde el valor positivo para este índice indica que la respuesta al estímulo discrepante es mayor, mientras que, el valor negativo para este índice indica que la respuesta al estímulo estándar es mayor. Para cada neurona se cuantifica el índice CSI, lo que nos permite determinar el nivel de SSA de manera individual y para cada una de las condiciones analizadas en función del contraste de frecuencia experimentado entre el estímulo discrepante y el estímulo estándar.

Secuencias complejas (Figuras 8 y 9)

Después de evaluar el nivel de SSA hemos registrado en cada una de las neuronas de la muestra su capacidad para codificar regularidades complejas más allá de la repetición de un estímulo. Para ello, hemos implementado 3 secuencia complejas adicionales, que se caracterizan por presentar diferentes roturas de la regularidad del patrón. Estas regularidades son: *secuencias con 'patrón de*

alternancia', patrones de estímulos con '*regularidad global y regularidad local*' y secuencias con '*regularidad de nivel*', tal como se utilizan comúnmente en experimentos psicofisiológicos con humanos (Alain et al., 1994, Picton et al., 2000; Cornella et al., 2012, Paavilainen., 2013).

Brevemente, cada secuencia de estímulos (*patrón de alternancia, regularidad global y regularidad local y regularidad de nivel*), consiste en la presentación periódica de diferentes estímulos formados a partir de tonos puros (f_1 y f_2 , 100 ms de duración, incluidas rampa 5 ms de subida/bajada) presentados de manera regular que son entremezclados aleatoriamente con '*minisecuencias de estímulos*' discrepantes y presentados a diferentes tasas de presentación (2, 4, y 8 Hz), con la misma frecuencia de contraste seleccionada para el paradigma *oddball*. Las secuencias de estímulos se presentaron en secuencias de 1.680 tonos. Para cada secuencia de estímulos, el patrón de regularidad se vulneró 40 veces (para cada tipo de minisecuencia de estímulos y cada frecuencia experimentada, 10% de probabilidad) mediante la repetición de cualquiera de los tonos con igual probabilidad (Figs. 8 y 9).

Como se puede observar en los esquemas ilustrativos de las secuencias complejas, tanto para las secuencias experimentales (Figs. 8 A, 9 A y C), como para sus correspondientes condiciones control (Figs. 8 B, 9 B y D), hemos seleccionados cuatro estímulos básicos: *esperado* (E, rectángulo azul), *inesperado* (I, rectángulo rojo), *control esperado* (CE, rectángulo verde), y *control inesperado* (CI, rectángulo naranja) para el análisis de los datos. A partir de ahora, nos referimos como '*minisecuencias*' a cualquiera de estos cuatro estímulos de tipo "ABAB" y/o "AAAB", donde $A = f_1$, $B = f_2$, (los ejemplos de éstas minisecuencias se destacan con los rectángulos grises en las figuras 8 y 9; otros autores las refieren como bloques de estímulos). Hemos diseñado estas minisecuencias de estímulos para comparar la respuesta de una neurona al mismo estímulo precedido de la misma historia de estimulación. Las '*minisecuencias de estímulos esperados*' para (f_1 y f_2) están formadas por una

sucesión de 4 estímulos que pueden formar un bloque del tipo BABA o ABAB; (f_1 y f_2 , respectivamente, para el patrón de alternancia) y AAAB, (f_1 y f_2 , respectivamente, para los patrones regularidad global, regularidad local y regularidad de nivel), mientras que, las '*minisecuencias de estímulos inesperados*' están formadas por una sucesión de 4 estímulos que pueden formar un bloque del tipo ABAA y BABB; AAAA (f_1 y f_2 , respectivamente) para cada patrón correspondiente.

Para el control de efectos debidos a la adaptación neuronal y controlar las propiedades físicas de los estímulos (Schröger y Wolff, 1996), implementamos secuencias de control y utilizamos los mismos estímulos construidos a partir de los mismos tonos puros (f_1 y f_2), pero esta vez, los estímulos se presentaron de manera aleatoria y entremezclados aleatoriamente con minisecuencias de tonos con el mismo número de estímulos y la misma historia de estimulación que para las condiciones experimentales ('*minisecuencias control esperado*', CE, rectángulos verdes; '*minisecuencias control inesperado*', CI, rectángulos naranjas, Figs. 8 y 9). Entre las diferentes secuencias se hicieron pequeñas interrupciones de al menos 2 min para evitar que en la medida de lo posible, secuencias previas tuvieran una influencia descontrolada en las secuencias siguientes.

Secuencias con patrón de alternancia (Figura 8)

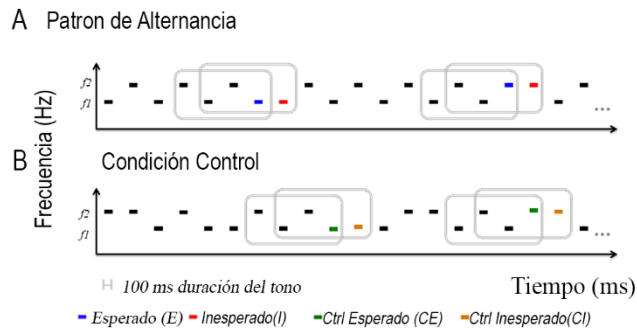


Figura 8. Ilustración esquemática del patrón de alternancia. Duración de los tonos (100 ms incluyendo rampa 5 ms subida/bajada) está representado por los rectángulos. Tasa de repetición (ISI: 500, 250, y 125 ms) se representa con la línea horizontal. A. La secuencia experimental consiste en dos tonos puros (rectángulos, ver en línea vertical la frecuencia f_1 y f_2), que se presentan de manera regular intercalados aleatoriamente por minisecuencias de estímulos esperados (rectángulo, azul) y estímulos inesperados (rectángulo, rojo). Las minisecuencias de estímulos (rectángulos grises) de estímulos inesperados rompen (10% de probabilidad) la regularidad de la secuencia. B. Condición de control consiste en una presentación aleatoria de los mismos tonos puros presentados en la secuencia experimental solo que presentados esta vez de manera aleatoria. Cada minisecuencia de estímulos de la secuencia experimental tuvo una minisecuencia de estímulos idéntica (mismo número de estímulos y misma historia de estimulación) en la condición control (control esperado, verde) o inesperado (control inesperado, naranja).

La secuencia con '*patrón de alternancia*' es la repetición clásica regular de dos tonos ABAB descrita originalmente por Bregman (1990) en el que la regularidad de la secuencia de alternancia se rompe por repeticiones de un sonido discrepante (Fig. 8; Alain et al., 1994). En nuestro caso, la regularidad de la secuencia experimental se interrumpió 40 veces (10% de probabilidad) por minisecuencias de estímulos inesperadas (rectángulos grises, Fig. 8) variando la repetición de cualquiera de los tonos (f_1 ó f_2) con una probabilidad similar, por ejemplo, ABABAA.....o BABABB. Por otra parte, las condiciones controles se caracterizan por presentar los tonos de manera aleatoria incluyendo dentro de cada secuencia los cuatro estímulos idénticos de la condición experimental (*minisecuencia de estímulos esperada y minisecuencia de estímulos inesperada*) para f_1 y f_2 pero esta vez como condiciones control (*minisecuencia de estímulos control esperado y minisecuencia control inesperado*), por ejemplo, **ABABABBABAABABA**.

Secuencias con patrón de estímulos con regularidad global y regularidad local y regularidad de nivel (Figura 9)

Las secuencia de patrón de estímulos con '*regularidad global y regularidad local*' (Fig. 9 A - B), así como la secuencia de '*regularidad de nivel*' (Fig. 9 C - D) representan variaciones complejas de tonos cambiantes en frecuencia y/o intensidad con diferentes probabilidades de ocurrencia en diferentes contextos. Al igual que en el caso del patrón de alternancia, estas secuencias de sonidos se presentan de manera periódica (condición experimental) y de manera aleatoria para tenerla como una condición control.

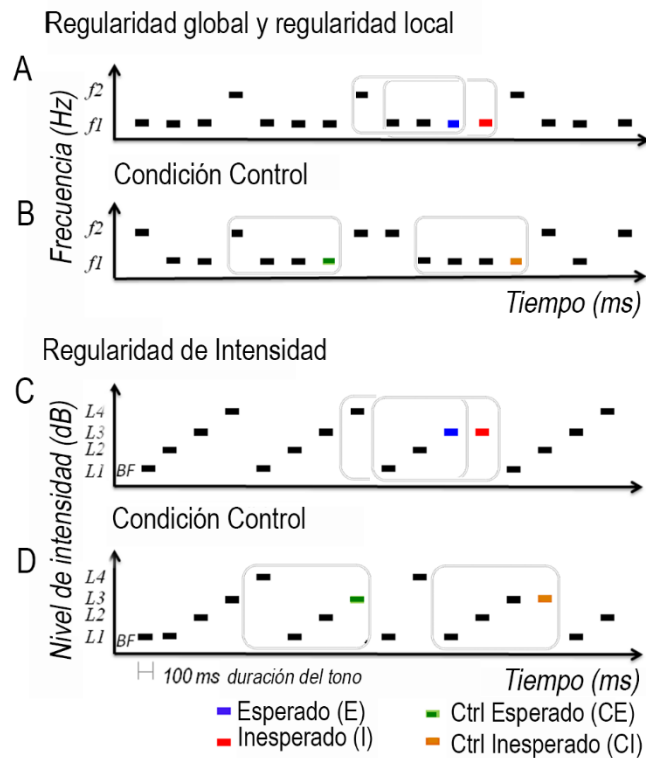


Figure 9. Ilustración esquemática de los patrones regularidad global y regularidad local y regularidad de nivel. Los rectángulos ilustran el tono. La Tasa de repetición se representa con la línea horizontal. A-C. Secuencia experimental consiste en tonos puros (rectángulos, ver en línea vertical la frecuencia f_1 y f_2 o intensidades, respectivamente), que se presentan de manera periódica intercalados aleatoriamente por minisecuencias de estímulos esperados (rectángulo, azul) y estímulos inesperados (rectángulo, rojo). Las minisecuencias (rectángulos grises, 10% de probabilidad) B-D. Condición de control consisten en una presentación aleatoria de los mismos tonos puros presentados en la secuencia experimental solo que presentados esta vez de manera aleatoria. Cada minisecuencia de estímulos de la secuencia experimental tuvo una idéntica (mismo número de estímulos y misma historia de estimulación) en la condición control (control esperado, verde) o inesperado (control inesperado, naranja).

La condición experimental para el patrón '*regularidad global y regularidad local*' consiste en una secuencia de estímulos (tonos puros) en el que dos sonidos (f_1 , f_2) se presentan de forma periódica, por ejemplo, AAAB AAAB AAAB similar al paradigma *oddball* periódico (Winkler et al., 1990; Horváth et al., 2001; Yaron et al., 2012), pero que en ocasiones, esta regularidad establecida por la repetición en la secuencia AAAB se rompe por la repetición inesperada del tono A, por ejemplo, AAAB AAAB **AAA**AB AAAB.

Finalmente, la condición experimental para el patrón '*regularidad de nivel*' es similar a la secuencia descrita previamente ('*regularidad global y regularidad local*') excepto que en este caso, los sonidos que forman la minisequencia de estímulos tienen todos la misma frecuencia, que es escogida a partir de la mejor frecuencia (BF) y usamos diferentes niveles de intensidad (generalmente 4 pasos con un contraste de nivel de 5 ó 10 dB).

El análisis de los datos se ha realizado utilizando las librerías de Matlab (The Mathworks, Inc). Para ello, se prepararon plantillas de análisis específicas y elaboradas expresamente para nuestro análisis (amablemente diseñadas y cedidas por J. Nieto) que nos permitieron modificar cualquier parámetro independientemente. Las respuestas neuronales para cada una de las condiciones se muestran como histogramas de tiempo peri-estímulo (PSTH) con una ventana de tamaño variable y cuantificado como el promedio del número de espigas (espigas/estímulo, Spk/s). El promedio del número de espigas se midió para cada unidad registrada (neurona) dentro de una ventana temporal ajustada a la actividad neuronal evocada por el sonido.

Con el fin de cuantificar las diferencias en la respuesta entre las distintas condiciones, también calculamos las respuestas a los estímulos mediante tres índices (Fig. 10), que se denominan: '*Índice Normalizado Esperado*', '*Índice Normalizado Inesperado*' y el '*Índice de Reconocimiento de Patrones*'.

El '*Índice Normalizado Esperado*' $INE(f_i)$, es la diferencia normalizada entre las respuestas a la minisequencia de estímulos esperada y su correspondiente control, definido como:

$$INE(f_i) = \frac{[ce(f_i) - e(f_i)]}{[ce(f_i) + e(f_i)]}$$

Por otra parte, el '*Índice Normalizado Inesperado*' $INI(f_i)$, se define como la diferencia entre la respuesta normalizada para la minisequencia de estímulos inesperada y su correspondiente control,

$$INI(f_i) = \frac{[ci(f_i) - i(f_i)]}{[ci(f_i) + i(f_i)]}$$

donde, $i = 1$ ó 2 , $e(f_i)$, $ce(f_i)$, $i(f_i)$ y $ci(f_i)$ son respuestas al estímulo f_i entremezclado dentro de las minisequencias de estímulos esperados, control-esperados, inesperados y control-inesperados, respectivamente. Estos valores son positivos cuando la respuesta neuronal es más débil (o negativo cuando la respuesta es más fuerte) para la minisequencia de estímulos con estímulos esperados y/o estímulo inesperado (presentados de manera periódica), que para el mismo estímulo cuando se presenta de manera aleatoriamente en las correspondientes minisequencias de sus condiciones control.

Los valores para estos dos índices [$INE(f_i)$ y $INI(f_i)$] oscilan desde -1 hasta 1, y sirven para comparar las respuestas a los mismos estímulos entremezclados en una minisequencia de estímulos presentada con diferentes probabilidades de ocurrencia. Estas respuestas normalizadas [$INE(f_i)$ y $INI(f_i)$] indican variaciones muy sutiles en la respuesta a los estímulos esperados/inesperados que no se pueden atribuir a la adaptación física por sí misma.

Por último, el '*Índice de Reconocimiento de Patrones*' $IRP(f_i)$, es la diferencia entre los dos índices descritos anteriormente:

$$IRP(f_i) = INE(f_i) - INI(f_i)$$

Las respuestas a las condiciones esperados, inesperados y sus condiciones controles serian todas iguales, teniendo en cuenta la hipótesis nula de ninguna sensibilidad de la neurona a la previsibilidad contextual de un estímulo.

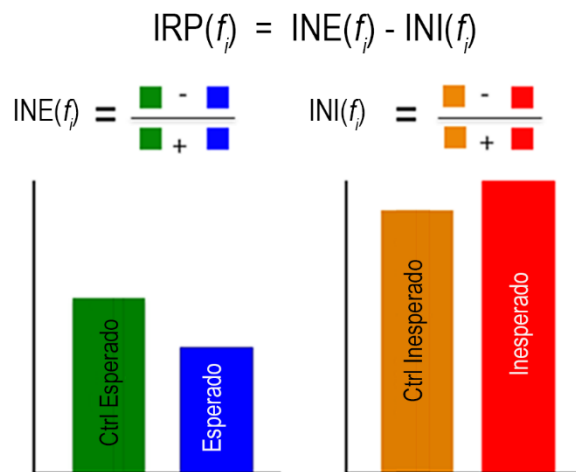


Figura 10. Esquemática ilustración de los índices. El PSTH (izquierda) es la diferencia normalizada de la respuesta entre la minisequencia de estímulo esperado (azul) y su correspondiente control (verde), que se define como el Índice Normalizado Esperado $INE(f_i)$. El PSTH (derecha), es la diferencia entre la respuesta normalizada para la minisequencia de estímulo inesperada (rojo) y su control (naranja), que se define como el Índice Normalizado Inesperado $INI(f_i)$. El Índice de Reconocimiento de Patrones $IRP(f_i)$ es la diferencia entre los dos índices anteriores.

Por lo tanto los valores para $INE(f_i)$ y $INI(f_i)$ serían cero y también lo sería el valor de $IRP(f_i)$. Además, si por alguna razón no controlada la excitabilidad general de la neurona difiere entre las secuencias experimentales y las

secuencias controles, como sería el caso si las respuestas en las condiciones controles son más fuertes, $INE(f_i)$ y $INI(f_i)$ tendrían magnitudes comparables, y de nuevo el $IRP(f_i)$ sería cero.

En cualquier otro caso (véase la descripción detallada en la sección de resultados), los índices $INE(f_i)$ y $INI(f_i)$ tendrían valores diferentes y el valor para el $IRP(f_i)$ sería diferente de cero, lo que indica una alteración en la respuesta a los estímulos esperados/inesperados (con respecto a sus controles) que no se deben a una adaptación como consecuencia de la historia previa de los parámetros físicos de la estimulación o por la excitabilidad general de la neurona.

Como se ha descrito anteriormente, el $IRP(f_i)$ es la diferencia entre $INE(f_i)$ y $INI(f_i)$, (cuyo rango de valores oscila entre -1 hasta 1) por lo tanto su rango de valores está determinado por el intervalo que oscila desde -2 hasta 2. El $IRP(f_i)$ será positivo si la respuesta al estímulo inesperado se incrementa y/o la respuesta al estímulo esperado se suprime en comparación con sus respectivos controles, y será negativo en caso contrario. El $IRP(f_i)$ es un índice unificado y bien controlado que detecta de forma fiable cualquier grado en la sensibilidad de la neurona a la ruptura de una regularidad en la presentación del estímulo.

Por último, debemos subrayar que para evaluar el nivel de significación estadística a un $\alpha = 5\%$ todas las medidas de las respuestas neurales, incluyendo el promedio de espigas por estímulo y el cálculo de los diferentes índices utilizados en esta investigación [CSI , $INE(f_i)$, $INI(f_i)$ y $IRP(f_i)$] se valoraron mediante un análisis de remuestreo (1000 muestras; *bootstrapping* en la terminología anglosajona). Brevemente, este procedimiento consiste en utilizar los datos originales registrados para generar 1.000 muestras, teniendo 40 ensayos al azar para cada PSTH y volvemos a calcular todas las estadísticas diana (E, I, CE, CI recuentos de pico promedio, $INE(f_i)$, $INI(f_i)$ y $IRP(f_i)$). Para cada distribución de remuestreo generada de esta manera, se calcula un intervalo de confianza del 95% para la estadística ('*bootci*' herramienta estadística de Matlab

para encontrar el intervalo de confianza, se define en términos de sesgo, varianza, intervalos de confianza, error de predicción o alguna otra medida) y se utiliza para contrastar la hipótesis nula de valor cero para esa estadística: la hipótesis nula fue rechazada si el intervalo de confianza para el análisis estadístico contiene a cero.

Codificación de regularidades complejas en el colículo inferior

El primer objetivo de nuestro trabajo fue estudiar si las neuronas que presentan adaptación específica al estímulo SSA, también tienen la capacidad de evocar respuestas cuando se estimulan auditivamente con secuencias sonoras más complejas. En este estudio hemos registrado extracelularmente un total de 153 neuronas individuales del colículo inferior, recolectadas en 41 ratas anestesiadas. Ciento cuarenta y dos neuronas las hemos estimulado utilizando secuencias con patrón de alternancia, 114 usando las secuencias de regularidad global y regularidad local y 40 usando las secuencias de regularidad de nivel. En general 33/153 neuronas fueron estimuladas utilizando las tres secuencias y todas las unidades registradas se estimularon primero con el paradigma *oddball*.

Las neuronas del colículo inferior muestran SSA

La distribución de los valores de CSI para la población registrada (Fig.11 A) forma una distribución continua que va desde -0.53 hasta 0.98 (media 0.48). Ciento siete neuronas (70%) mostraron valores positivos para el CSI y

también algún grado de adaptación; y otras 2 neuronas mostraron valores negativos pero significativos para el CSI, lo que indica que respondieron mejor al estímulo frecuente que al discrepante.

Como la respuesta media de la población es sensible a la presencia de neuronas con altas tasas de disparo, analizamos los índices de adaptación al estímulo específico normalizado para cada neurona por separado. La figura 11 B muestra un gráfico de dispersión del índice SI (frecuencia específica) para cada par de frecuencias [$SI(f_1)$ y $SI(f_2)$] y para cada condición de separación entre las frecuencia (contraste de frecuencia, Δf 0.1, $n = 84$, triángulos negros y Δf 0.37, $n = 69$, círculos).

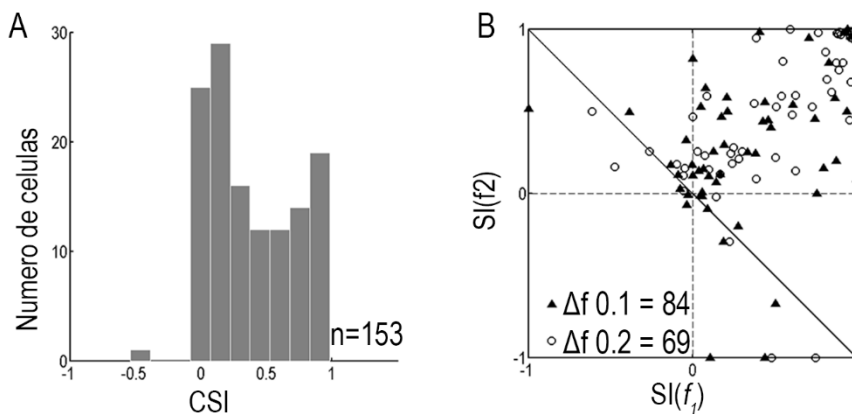


Figura 11. Análisis de la adaptación a nivel población para las neuronas del colículo inferior. A. Histograma del índice común de adaptación (CSI). $CSI = 0$ indican que las respuestas neuronales fueron iguales cuando los tonos se presentaron como frecuentes o infrecuentes, mientras que los valores positivos y negativos representan mayores tasas de disparo cuando los tonos fueron frecuentes (negativos) e infrecuentes (positivos) respectivamente B. Diagrama de dispersión para de $SI(f_1)$ versus $SI(f_2)$ para cada Δf probado. Cada punto en el panel representa los datos para cada neurona.

Hemos utilizado una tasa de repetición de 250 ms. La mayoría de las neuronas están ubicadas por encima de la diagonal, con una distribución continua y en el cuadrante superior derecho, confirman que a nivel poblacional tenemos diferentes grados de la adaptación.

Las neuronas del colículo inferior son sensibles a secuencias con patrones de alternancia

Las neuronas del colículo inferior son sensibles a la regularidad de estímulos

Para evaluar el grado de 'supresión de la expectativa' y la 'potenciación de la sorpresa' de una neurona, en la respuesta neuronal en función de su historia de estimulación previa, hemos promediamos sus respuestas evocada (espigas/estímulo, Spk/s) para las miniseuencias de estímulos esperados e inesperados y las comparamos con sus respectivos controles para cada frecuencia f_1 o f_2 . Posteriormente calculamos las respuestas normalizadas para las miniseuencias de estímulo esperado [INE(f_i) e inesperados INI(f_i) en función de cada contraste de frecuencia (Δf 0.37, $n = 72$ ó 0.1, $n = 68$) y las tasas de repetición empleadas (ISI 500, $n=5$; 250, $n=114$ ó 125 ms, $n=21$)]. La figura 12 muestra dos ejemplos de respuestas evocadas por neuronas registradas cuando se estimularon con la secuencia del patrón de alternancia (Fig. 12 B, 12 D). En esta imagen se puede observar su correspondiente área de frecuencia FRA (Fig. 12 A, 12 C).

La neurona ilustrada en la figura 12 A muestra un grado moderado pero significativo de adaptación (CSI = 0.15), mientras que la otra neurona (Fig. 12 B) no muestra adaptación (CSI = 0.08). Cuando inspeccionamos las respuestas

evocadas a la secuencia con patrón de alternancia, observamos que las dos neuronas tuvieron respuestas significativas para los estímulos esperados e inesperados respectivamente. Las respuestas de la primera neurona (Fig.12 A) a las miniseuencias de estímulos esperados (E1; E2; trazas azules) fueron más débiles que sus respectivos controles (CE1; CE2; trazas verdes) y mostraron un valor significativo para $INE(f_i)$ a ambos estímulos f_1 y f_2 [$INE(f_1) = 0.50$; $INE(f_2) = 0.76$]. Por otra parte, la respuesta a la miniseuencia de estímulos inesperados (I1, Trazas rojas) fue aproximadamente igual a la respuesta de su correspondiente condición control (CI1; trazas naranjas) y mostró un valor estadísticamente no significativo para $INI(f_i)$ [$INI(f_1) = 0.13$; $INI(f_2) = 0.32$]. El análisis del $IRP(f_i)$ para esta neurona mostró un valor positivo y estadísticamente significativo para f_1 y no significativo para f_2 [$IRP(f_1) = 0.38$; $IRP(f_2) = 0.44$]. Es importante subrayar que las respuestas a las condiciones esperadas fueron más débiles que sus condiciones control, mientras que las respuestas a las condiciones inesperadas fueron aproximadamente iguales a las de sus condiciones control. En resumen, podemos confirmar que esta neurona tuvo un $INE(f_i)$ positivo, lo que significa una menor respuesta de las condiciones esperadas en relación a sus condiciones control, además su $IRP(f_i)$ positivo significa una disminución específica de la frecuencia de disparo para las condiciones esperadas que no se produce en las condiciones inesperadas en comparación a sus condiciones controles respectivamente.

Por otra parte, las respuestas evocadas a las miniseuencias de estímulos esperados para la neurona ilustrada en la figura 12 D fueron menores que sus correspondientes controles [$INE(f_1) = 0.24$ (estadísticamente no significativo); $INE(f_2) = 0.27$ (estadísticamente significativo)], lo cual fue un comportamiento similar al observado para la neurona descrita anteriormente (Fig. 12 A). Sin embargo, esta neurona carecía de respuesta para la condición 'inesperado I1' en comparación con su correspondiente control y mostró un valor significativo para $INI(f_i)$ ($INI(f_1) = 1$), mientras que la respuesta a la condición

'inesperada I2' fue casi igual a la de su condición control. Además, el análisis del $IRP(f_i)$ para esta neurona mostró un valor negativo y significativo para f_1 ($IRP(f_1) = -0.75$). Por lo tanto, el valor negativo de $IRP(f_i)$ es el resultado de la disminución específica en la frecuencia de disparo para la condición inesperada en comparación con su control.

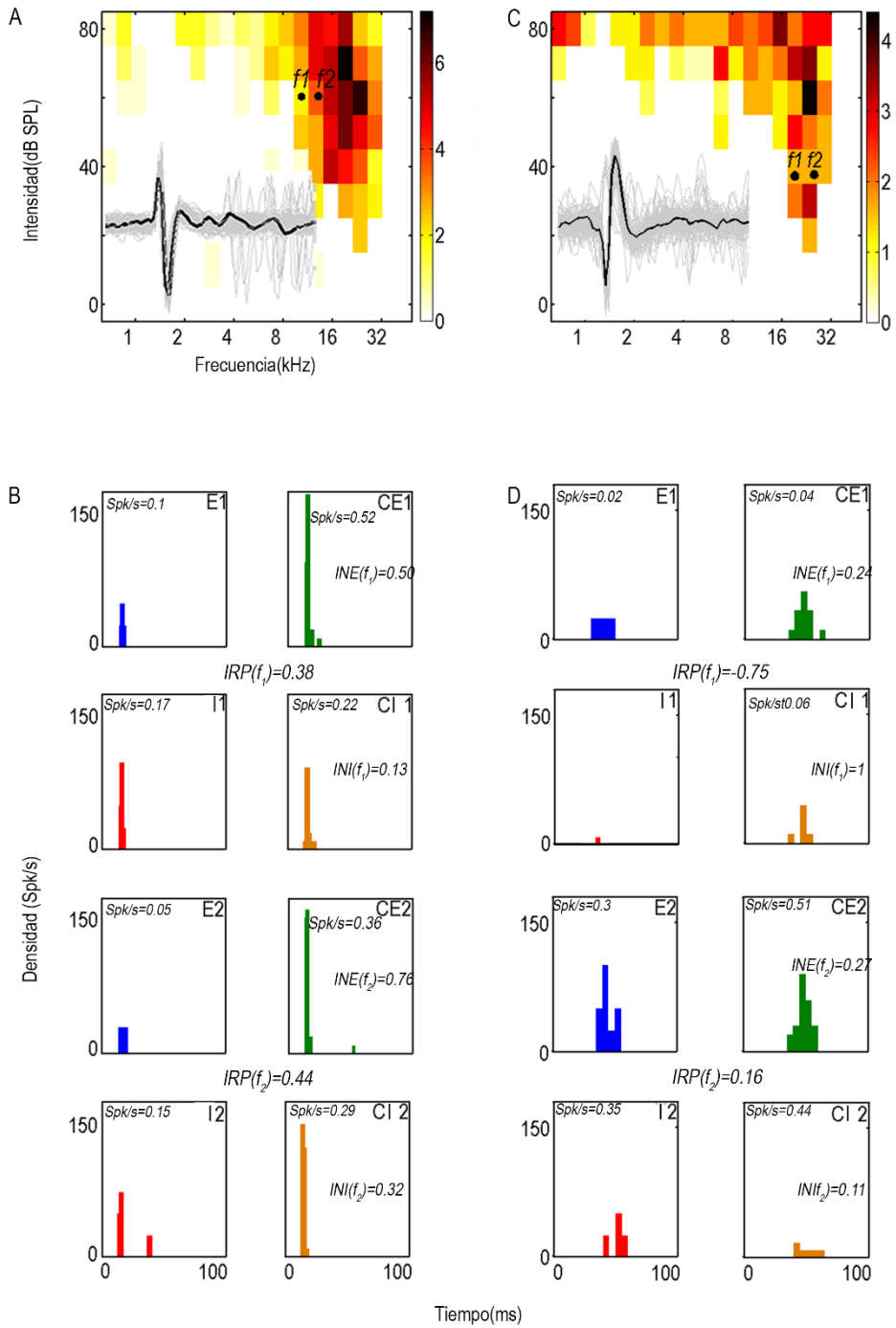


Figura 12. Ejemplos de respuesta de dos neuronas a secuencia con patrón de alternancia para las dos frecuencias (A-B, f_1 y f_2) seleccionadas dentro del área de repuesta (FRA). Forma de onda de las espigas registradas a partir de $ISI=250$ ms y un $\Delta F=0.1$. La forma y amplitud del pico es constante lo que indica que los registros se realizaron en unidades individuales. B-D Los trazos en los histogramas representan la actividad neuronal (número de espigas/estimulo; bin de duración: 10 ms) evocada por los estímulos esperados (trazos azules), inesperados (trazos rojos), control esperado (trazos verdes) y control inesperado (trazos naranjas). Las dos neuronas mostraron una respuesta significativa para f_1 (neurona A, $IRP(f_1)=0.38$; neurona C, $IRP(f_1)=-0.75$).

Las neuronas del colículo inferior responden de manera diferencial frente a secuencias con sonidos aleatorios y periódicos

A continuación, hicimos un análisis de la sensibilidad de las neuronas frente a la regularidad del patrón dentro de secuencias con sonidos aleatorios y periódicos a nivel poblacional. En la figura 13 se ilustra un diagrama de dispersión con los valores significativos para los índices $INE(f_i)$ (triángulos) y $INI(f_i)$ (círculos) para cada neurona y para cada frecuencia f_1 (vacíos) y f_2 (llenos) por separado. El análisis muestra que la mayoría de los puntos están ubicados cerca de la diagonal, lo que indica que los valores para los índices $INE(f_i)$ y $INI(f_i)$ son muy similares y por lo tanto no presentan sensibilidad específica para la ruptura de la regularidad frente a estímulos **AB** en la secuencia de alternancia. Los valores situados en la mitad superior y con $INE(f_i) > 0$ corresponden a neuronas cuyas respuestas fueron menores al estímulo esperado en relación a sus correspondientes controles [$e(f_i) < ce(f_i)$]. Debemos tener en cuenta que los estímulos esperados están incluidos dentro de una secuencia periódica, mientras que los estímulos de las condiciones control se encuentran contenidos dentro de una secuencia aleatoria. Por otra parte, los valores ubicados en la mitad inferior corresponden a neuronas cuyas respuestas evocadas fueron más pronunciadas para el estímulo esperado en relación a su control [$e(f_i) > ce(f_i)$]. Del mismo modo, a la derecha del gráfico se representan los valores positivos $INI(f_i)$ que se caracterizaron por tener respuestas mayores a los estímulos inesperados que a sus controles [$i(f_i) > ci(f_i)$], mientras que, los valores negativos se ubicaron a la izquierda y su comportamiento fue inverso al descrito anteriormente $INI(f_i)$ [$i(f_i) < ci(f_i)$].

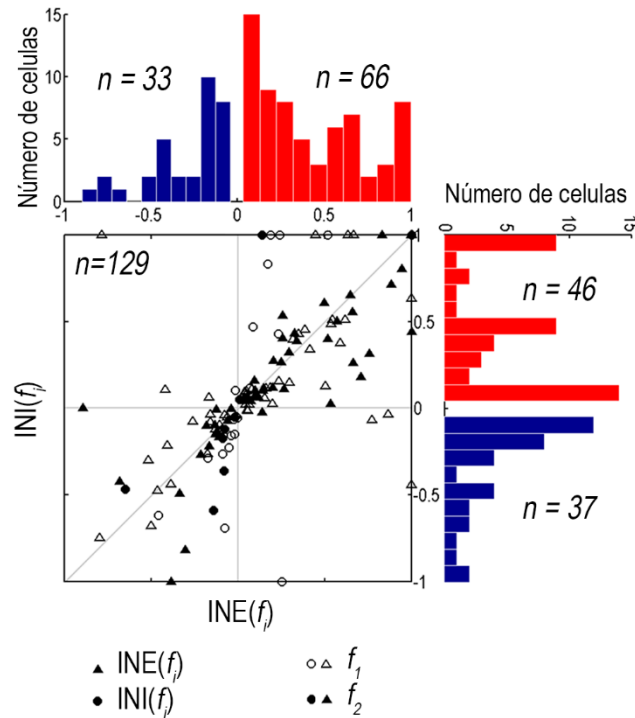


Figura 13. Diagrama de dispersión que correlaciona respuestas neuronales evocadas frente a secuencias periódicas y aleatorias. La ordenada corresponde a los valores estadísticamente significativos de $INE(f_i)$ (triángulos), mientras que la abscisa se correlaciona con $INI(f_i)$ (círculos), cada punto representa la respuesta de una neurona para las dos frecuencias probadas (f_1 , vacíos; f_2 , llenos). Los histogramas representan la distribución positiva (Barras rojas) y negativa (barras azules) de los índices.

A nivel poblacional también se muestra la distribución para los valores de los índices $INE(f_i)$ (histograma horizontal) y $INI(f_i)$ (histograma vertical). Como se puede observar en la figura 13, la proporción de valores positivos y negativos del índice $INI(f_i)$ es aproximadamente similar, y en consecuencia, no son estadísticamente diferente [$INI(f_i) = 46$ neuronas con valores positivos, mientras que $INI(f_i) = 37$ neuronas con valores negativos]. Sin embargo, es importante señalar que para el índice $INE(f_i)$, dos terceras partes de las neuronas mostraron una proporción mayor para los valores positivos en comparación con los valores

negativos y esta diferencia además es estadísticamente significativa (ver, *histograma vertical*; 66/99 positivos, 33/99 negativos; *prueba de los signos*, *aproximación normal con corrección de continuidad* $z = 3.41$; $p < 0.01$). En otras palabras, los datos muestran de manera evidente que el colículo inferior posee neuronas que incrementan sus respuestas frente a estímulos cuando los mismos son presentados dentro de una secuencia aleatoria a diferencia de si éstos se presentan como parte de una secuencia periódica. Por otra parte, este cambio en la excitabilidad general de la respuesta de la neurona cuando los sonidos se presentan dentro de una secuencia aleatoria en lugar de patrones repetitivos sugiere que esta respuesta pueda deberse a un control de ganancia de modulación.

Las neuronas del colículo inferior son sensibles a la ruptura de la regularidad de estímulo

La figura 14 muestra en los diagramas de dispersión la comparación de las respuestas para los estímulos presentados en las condiciones esperado vs. control-esperado (A) y la comparación para las respuestas de las condiciones inesperado vs. control-inesperado (B). Cada punto representa los valores para los índices $INE(f_i)$ y $INI(f_i)$ respectivamente, y el código de colores se refiere únicamente a los valores de los índices que fueron estadísticamente significativos. Los puntos por encima de la diagonal corresponden a los valores positivos para $INE(f_i)(A)$ o $INI(f_i)(B)$ respectivamente y los puntos por debajo de la diagonal corresponden a los valores negativos de dichos índices.

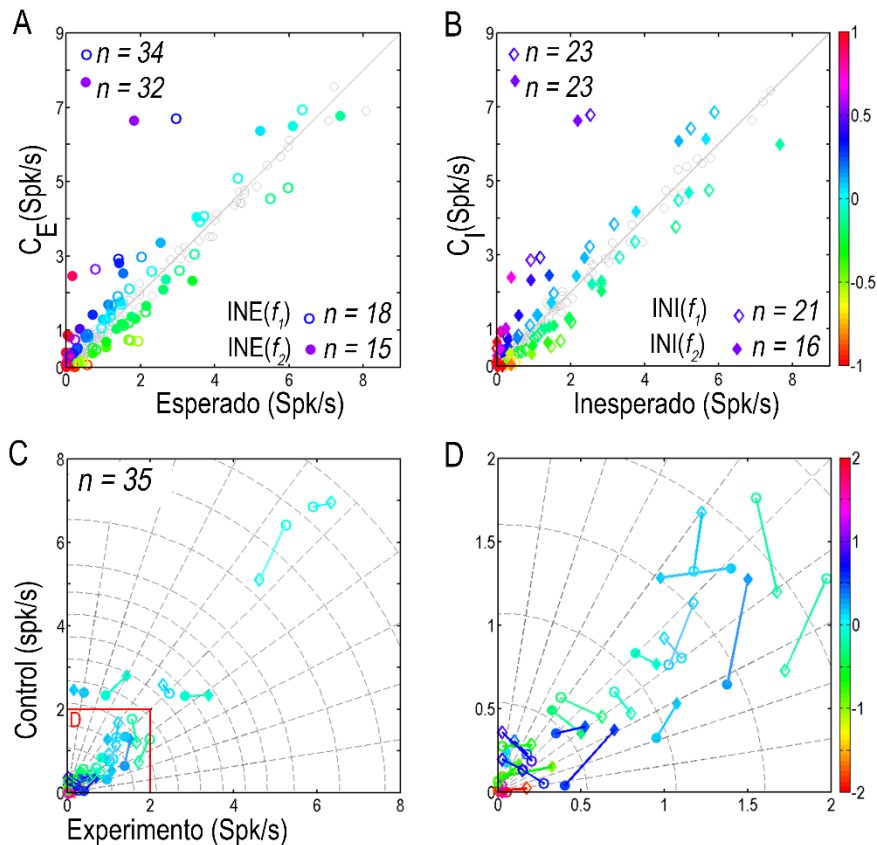


Figura 14. Diagramas de dispersión donde se muestra la sensibilidad a la ruptura de la regularidad. A - B Cada punto representa los valores de los índices $INE(f_i)$ y $INI(f_i)$ respectivamente, el mapa de color representa los valores que fueron estadísticamente significativos, el gradiente corresponde al valor de cada uno de los índices. Debido a que hemos probado al menos 2 frecuencias hay más puntos que el número total de neuronas registrado. C - D diagramas polares los círculos corresponden a la integración de la respuesta esperada y su control, mientras que los rombos son las respuestas integradas del estímulo inesperado y su control, el vector corresponde al $IRP(f_i)$.

A nivel poblacional, 71/140 de las neuronas testeadas (99 valores en la Fig. 14 A) mostraron una respuesta diferencial para la minisecuencia del estímulo esperado con respecto a su condición control, para al menos una de las frecuencias f_1 o f_2 . Por otra parte, ninguna de las neuronas mostró respuesta diferencial a las dos frecuencias (f_1 y f_2) al mismo tiempo. En otras palabras, cada neurona solo fue sensible a un único valor significativo o bien para en índice

INE(f_1) o INE(f_2) [INE(f_1) = 52; INE(f_2) = 47] respectivamente. La distribución (Fig. 14 A) de los valores positivos y negativos del índice INE(f_i), mostró un sesgo muy evidente hacia los valores positivos [67% (n = 96) valores positivos, 33% (n = 33) valores negativos]. Sin embargo, 62/140 neuronas (83 valores en la Fig. 14 B) mostraron un valor estadísticamente significativo para uno de los índices INI(f_1) o INI(f_2) [INI(f_1) = 44; INI(f_2) = 39], con una distribución ligeramente sesgada también hacia los valores positivos [55% (n = 46) valores positivos; 45% (n = 37) valores negativos].

La inspección meramente visual de los paneles A y B en la figura 14, sugiere que la mayoría de los valores (puntos) muestran una localización casi coincidentes en ambos paneles, lo que indica que la mayoría de las neuronas mostraron respuestas equiprobables para las condiciones esperadas e inesperadas. Esta observación es particularmente evidente para aquellas neuronas con respuestas más fuertes. Para poder caracterizar aún más a estas neuronas construimos un diagrama polar (Fig. 14 C - D) mediante la integración de los datos representados en la figura 14 A y B, donde cada neurona está representada por un vector que conecta cada punto esperado/control-esperado (Fig. 14 A, círculos) con su correspondiente punto inesperado/control-inesperado (Fig. 14 B, rombos) para cada frecuencia examinada (f_1 , vacíos; f_2 , llenos). Los vectores paralelos a la dirección radial, o que tienen una longitud de cero debido a la alta coincidencia entre los valores de A y B (que no se muestran en la gráfica polar para mayor claridad) denotan una proporción directa para las respuestas entre las condiciones experimentales y las condiciones control con igual valor para los índices INE(f_i) y INI(f_i) y por lo tanto un nulo valor de IRP(f_i). Por ejemplo, si una neurona respondió más fuerte para la condición control-esperado en comparación con su condición esperada este valor estaría ubicado por encima de la diagonal (Fig. 14 A). Además, si al mismo tiempo respondió más fuerte para la condición control-inesperado que a su condición inesperada (Fig. 14 B), podemos afirmar que estas respuestas se explicarían como un cambio global de la

respuesta entre las condiciones experimentales (presentadas de manera periódica) y sus correspondientes condiciones control (presentadas de manera aleatoria) más que por una sensibilidad especial a la regularidad del patrón o ruptura de la misma.

Por el contrario, si los vectores mostrados en la figura 14 C y D ($n = 35$) tuvieran un componente de orientación orthogonal al de las líneas radiales, indicaran un cambio genuino en la adaptación entre las condiciones esperado vs. control-esperado e inesperado vs. control-inesperado. Este cambio, de hecho se corresponde con el valor del $IRP(f_i)$ que se incrementará en función a los espacios vectoriales abarcados (número de líneas radiales cruzadas). Así mismo, el sentido del vector se correlaciona con el signo del $IRP(f_i)$, de manera que si el valor del $IRP(f_i)$ es positivo (52%) tendrá un vector que va en dirección de las manecillas del reloj, mientras que si el $IRP(f_i)$ es negativo su vector irá en dirección contraria. Por lo tanto, estas neuronas muestran una respuesta distinta y diferencial al patrón y nos referiremos a estas neuronas como '*neuronas sensibles al patrón*', que además no puede explicarse simplemente por un cambio global en la excitabilidad como anteriormente.

Tipos neuronales sensibles a secuencia de patrones de alternancia

Para continuar con la caracterización de las respuestas neuronales y explorar la posibilidad de que existan subpoblaciones neuronales diferentes '*sensibles al patrón*', analizamos las neuronas con $IRP(f_i)$ significativo solamente y comparamos sus tres índices [$INE(f_i)$, $INI(f_i)$ y $IRP(f_i)$] de manera conjunta. Así pues, los resultados que obtuvimos, se ilustran en el gráfico de dispersión de la figura 15 A ($INE(f_i)$ se representa en la ordenada, el $INI(f_i)$ en la abscisa y el $IRP(f_i)$ como la distancia a lo largo del eje definido por la diagonal roja).

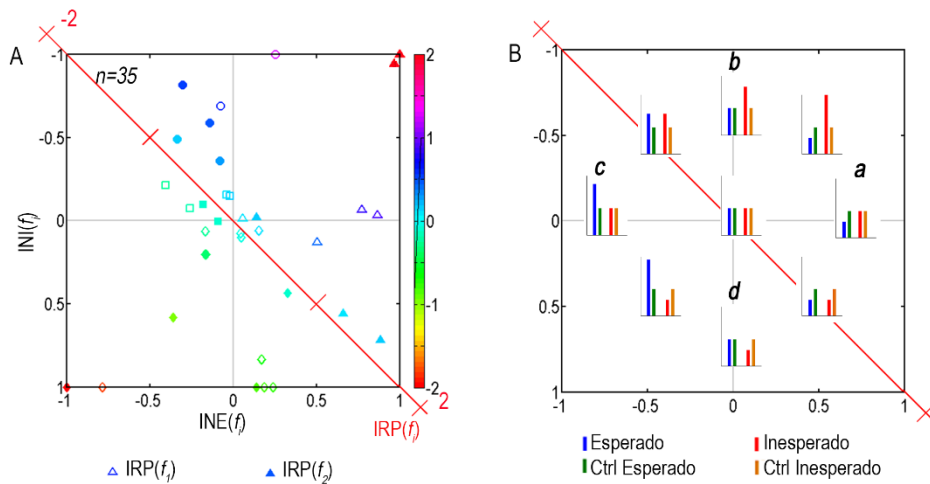


Figura 15. Gráfico de dispersión de las respuestas neuronales con $IRP(f_i)$ significativo y sus correspondientes índices $INE(f_i)$ (ordenada), $INI(f_i)$ (abscisa) y $IRP(f_i)$ (diagonal, rojo) para cada una de las frecuencias testeadas (A; f_1 , marcadores vacíos; f_2 , marcadores llenos), el mapa de colores corresponde al valor del $IRP(f_i)$, cada grupo neuronal se definió por un marcador (Grupo 1, triángulos); grupo 2 (círculos); grupo 3 (cuadrados) y grupo 4 (rombos) B. Modelo ilustrativo de los tipos neuronales en función a las propiedades de la respuestas para cada uno de las condiciones probadas (esperado, azul; inesperado, rojo; control esperado, verde; control inesperado, naranja).

Los puntos correspondientes a los valores de los índices $INE(f_i)$ y $INI(f_i)$ ocupan una localización cuya distancia con respecto a la diagonal roja es proporcional al valor del índice $IRP(f_i)$. Los resultados muestran que las neuronas ($n = 35$) con valores de $IRP(f_i)$ estadísticamente significativo [$IRP(f_1)$, $n = 20$; $IRP(f_2)$, $n = 15$] tienen sensibilidad no sólo a la regularidad de la secuencia, sino también a la ruptura del patrón, y en función de sus respuestas hemos distinguido cuatro tipos neuronales que enumeramos y describimos a continuación. El primer tipo neuronal corresponde a neuronas que mostraron una respuesta de 'supresión de la expectativa' porque sus respuestas se caracterizaron por disminuir específicamente a la minisequencia de estímulos esperados (en relación a su control) pero no (o en menor medida) para la minisequencia de estímulos inesperados y en consecuencia, estas neuronas mostraron un valor

para $INE(f_i)$ positivo y mayor, y un valor inferior para $INI(f_i)$ (triángulos, Fig. 15 A; **a** en el modelo ilustrativo, Fig. 15 B). El segundo tipo neuronal mostraba respuestas de *'aumento de la sorpresa'* (Fig. 15 A, círculos) porque sus respuestas aumentaron cuando se presentaba el estímulo inesperado (en relación a su control) pero no (o en menor proporción) para la minisequencia de los estímulos esperados. Por consiguiente, estas neuronas mostraban un valor negativo y elevado para el índice $INI(f_i)$ y un valor mucho más pequeño para $INE(f_i)$ (**b** en el modelo ilustrativo, Fig. 15 B).

Por otro lado, además de los dos tipos neuronales descritos anteriormente, hemos encontrado otras dos poblaciones neuronales que poseían una respuesta dominante y amplificada para los estímulos esperados. Así pues, existe un tercer tipo neuronal, cuyas respuestas aumentaron frente a la condición esperada pero no (o no tanto) para la condición inesperada [valor mayormente negativo de $INE(f_i)$ y valor pequeño para $INI(f_i)$]; estas neuronas muestran un efecto de *'expectativa para la sorpresa'* (cuadrados, Fig. 15 A; **c** en el modelo ilustrativo, Fig. 15 B). Finalmente, el cuarto tipo neuronal corresponde a aquellas neuronas que disminuyeron su respuesta de manera específica a la condición inesperada (valores positivos para $INI(f_i)$ y pequeños para $INE(f_i)$); y mostraron un efecto de *'supresión de la sorpresa'* (rombos, Fig. 15 A; **d** en el modelo ilustrativo, Fig. 15 B).

En resumen, nuestros resultados (Fig. 15) mostraron que el colículo inferior posee al menos 4 tipos neuronales (*'supresión para la expectativa'*; *'incremento para la sorpresa'*; *'expectativa para la sorpresa'* y *'supresión de la sorpresa'*). Esta clasificación la hicimos en función de la respuesta neuronal a los patrones de estimulación y sugieren que esta sensibilidad no se origina por variaciones aleatorias en la respuesta neural.

A continuación, y para concluir el análisis de las respuestas a patrón de la alternancia, llevamos a cabo un estudio adicional separando las neuronas con

IRP(f_i) positivos significativos ($n = 18$) y IRP(f_i) negativos significativos ($n = 17$) para evitar posibles enmascaramientos debidos a un promedio compensatorio de sus medias contrapuestas. Asimismo, también normalizamos los valores en función de la relación entre la probabilidad a las respuestas de las condiciones experimentales y las respuestas de las condiciones control (E/CE y I/CI). Esta normalización nos permitió realizar una comparación directa entre las condiciones esperada e inesperada vs. sus correspondientes controles debido a que las diferencias físicas entre las características de los estímulos se eliminaban al expresarse como proporciones.

Los resultados mostraron que la relación de probabilidad entre I/CI para el grupo con valores de IRP(f_i) positivos (Fig. 16 A) fue significativamente mayor (mediana = 1.70), que la relación E/EC (mediana = 0.75; *test de los rangos con signos Wilcoxon*, $p < 0.01$). Dado que el índice IRP(f_i) es la diferencia entre los índices INE(f_i) y INI(f_i), a nivel poblacional hemos encontrado que para del índice INE(f_i) el 64% de las neuronas experimento una reducción de su respuesta para el estímulo esperado en comparación con su control mientras que para el 82.35% de las neuronas el índice INI(f_i) aumento su respuesta para el estímulo inesperado en relación a su control. En otras palabras, este análisis revela que el índice IRP(f_i) es positivo porque la respuesta al estímulo inesperado se incrementa y/o la respuesta al estímulo esperado se suprime a nivel poblacional.

Por el contrario, para el grupo con valores de IRP(f_i) negativos (Fig. 16 B) la relación I/CI fue más pequeña que la relación E/CE (media relación I/CI = 1.56; media relación E/CE = 0.56; *test de los rangos con signos Wilcoxon*, $p < 0.01$). A nivel poblacional, observamos que para el índice INE(f_i), el 58.9% de las respuestas neuronales eran más acentuadas para el estímulo esperado en comparación con sus correspondientes controles, mientras que para el índice INI(f_i) el 82.35% de las respuestas neuronales disminuyeron para el estímulo inesperado en relación a su control.

Llegados a este punto, es conveniente recapitular, y así podemos concluir que a nivel poblacional, las neuronas con valores del índice $IRP(f_i)$ positivo mostraron una respuesta mayor al estímulo *inesperado* que a la minisequencia de estímulos esperados (una vez normalizadas las respuestas con sus respectivos controles), mientras que las neuronas con valores del índice $IRP(f_i)$ negativo la respuesta mayor fue al estímulo *esperado*. Por todo ello, podemos afirmar que el análisis de los datos a nivel poblacional refleja de manera muy fiable los datos obtenidos a nivel neuronal.

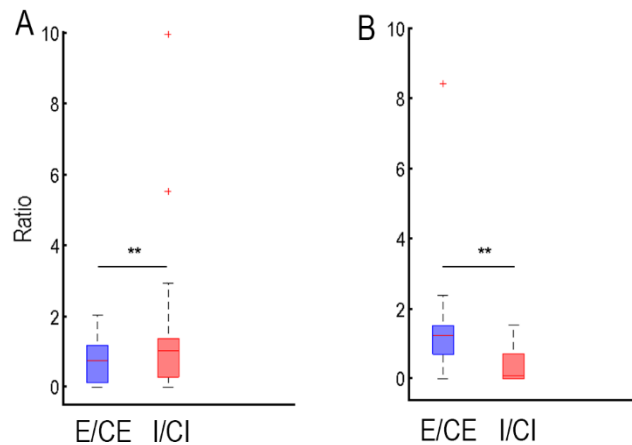


Figura 16. Diagrama de cajas donde se muestran las relaciones E/CE y I/CI para las poblaciones con valores de $IRP(f_i)$ positivos (izquierda) y negativos (derecha). Las trazas E/CE están representadas en color azul, mientras que las trazas I/CI se representan en color rojo.

Otras propiedades fisiológicas y morfológicas neuronales de las neuronas sensibles a secuencias de patrones de alternancia

Para completar el análisis de las neuronas sensibles a secuencias de patrones de alternancia, debemos comentar que también, hemos analizado si estas neuronas tienen alguna propiedad especial como por ejemplo: su correlación con la adaptación específica a estímulos (SSA), la variabilidad de la respuesta debido al cambio en el contraste de frecuencia, la tasa de repetición, la mejor frecuencia (BF), la localización histológica y cambios ocasionados por propiedades temporal y espectrales.

Los resultados para estos análisis se muestran en la Figura 17. En el gráfico de dispersión e histogramas se puede observar una distribución correspondiente al 77% de neuronas (27/35) que tuvieron un valor significativo para el índice $IRP(f_i)$. Estas mismas neuronas mostraron algún grado de adaptación específica a estímulos y valores positivos para el CSI (Fig. 17 A). Sin embargo, los resultados también mostraron que la mayoría de estas neuronas (74%; 20/27) poseen un valor $CSI < 0.6$ lo que indica que las neuronas con sensibilidad al patrón de alternancia tienden a estar asociadas a neuronas con bajos SSA.

Nuestros resultados mostraron que las neuronas sensibles al patrón de alternancia [valores significativos de $IRP(f_i)$] tienden a responder mejor a un $BF < 20$ kHz. Por otra parte, se observó que la mayoría de estas neuronas respondieron de manera preferencial cuando la tasa de presentación de los estímulos era de 4 Hz (32/35), mientras que solamente 3 (3/35) neuronas respondieron de manera significativa cuando se estimularon a 8 Hz. En relación al parámetro del contraste de frecuencias empleadas en el patrón de presentación de los estímulos no se observó diferencia significativa [Δf 0.1 (n = 17); 0.37 (n = 18)].

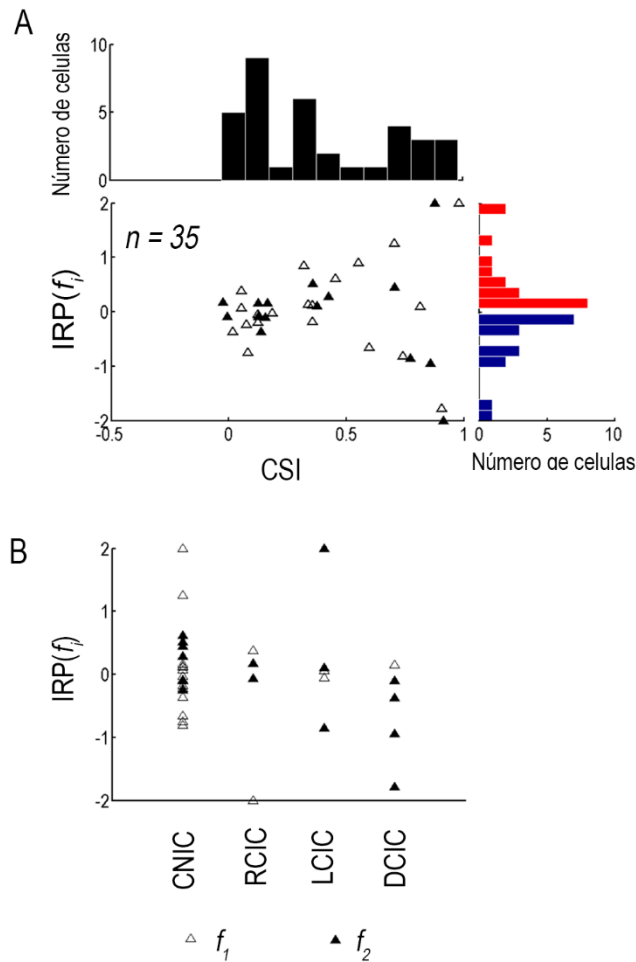


Figura 17. Gráfico de dispersión de las respuestas neuronales con IRP(f_1) significativo vs. el índice de adaptación CSI para cada una de las frecuencias testeadas (A; f_1 , triángulos vacíos; f_2 , triángulos llenos). El histograma superior (en negro) muestra la distribución del CSI mientras que el histograma lateral (en rojo, valores positivos y en azul, valores negativos) muestra la distribución para el IRP(f_1). B. Gráfico de dispersión que indica el área histológica de registro (eje x) vs. el valor del IRP(f_1) (eje y) para cada una de las frecuencias testeadas (f_1 , triángulos vacíos; f_2 , triángulos llenos).

Las neuronas con $IRP(f_i)$ significativos mostraron diferentes tipos de respuesta temporal entre las que destacan: encendido ($n = 17$), encendido-sostenido ($n = 11$) y sostenidas ($n = 5$) a lo largo del estímulo.

En relación a los tipos de campos receptivos que observamos cuando inspeccionamos las propiedades espectrales podemos decir que había los tipos generales descritos en el colículo inferior y que corresponden a respuestas de tipo V ($n = 19$) principalmente, pero también de tipo no-V entre las que destacamos respuestas de tipo estrechas ($n = 6$), desviadas a bajas frecuencias ($n = 5$), multipico ($n = 3$) y de tipo U o muy anchas ($n = 2$).

Finalmente, el análisis histológico reveló que nuestros registros estaban en todas las divisiones del colículo inferior (Fig. 17 B).

Sin embargo, la mayoría de las neuronas sensibles al patrón de alternancia se encontraban en el núcleo central (60%), mientras que solamente el 14.3% se registraron en la corteza dorsal, 14.3% se registraron en la corteza lateral y el 11.4% restante se registraron en la corteza rostral.

Respuestas neuronales del colículo inferior a patrones de estímulos con regularidad global y regularidad local

Del total de 153 neuronas registradas en nuestra muestra, hemos analizado la respuesta de 114 de ellas utilizando secuencias complejas diferentes al patrón de alternancia descrito anteriormente donde en este caso comparamos el efecto de presentación de estímulos que forman un patrón de estímulos regulares locales con otros que cumplen con un patrón global de regularidad. De la misma manera que para la secuencia del patrón de alternancia, hemos hecho un promedio de sus respuestas evocadas (espigas/estímulo, Spk/s) para las minisecuencias de estímulos esperados e inesperados y las hemos comparamos

con sus respectivos controles. A continuación, para cada neurona individual calculamos las respuestas normalizadas para cada uno de los índices [INE (f_i), INI(f_i), IRP(f_i)], en función de cada contraste de frecuencia (Δf 0.37, $n = 60$ ó 0.1, $n = 54$) y las tasas de presentación de los estímulos empleados (ISI 250, $n = 102$; o 125 ms, $n = 12$).

La Figura 18 muestra un ejemplo de la respuesta evocada por una neurona cuando se estimuló con este patrón de secuencias. Esta neurona se caracteriza por tener un grado moderado, pero significativo de SSA (CSI = 0.25). El análisis de esta neurona revela que su respuesta a la minisequencia del estímulo esperado (Fig. 18 B y E, trazos azules) es más débil que la respuesta a su respectivo control (CE, trazos verdes) lo que origina un valor significativo para INE(f_i) [INE(f_i) = 0.34]. Sin embargo, la respuesta a minisequencia del estímulo inesperado (I, trazos rojos) está aumentada con respecto a su control correspondiente (C; trazos naranjas) por lo que muestra un valor estadísticamente no significativo para INI(f_i) [INI(f_i) = -0.17]. Esta respuesta neuronal corresponde a un caso típico clasificado dentro del grupo de respuestas neuronales 'supresión de la expectativa', porque se observa claramente que la respuesta a la minisequencia del estímulo esperado se atenúa y muestra una disminución significativa con respecto al mismo estímulo cuando este se presenta al azar [IRP(f_i) = 0.51].

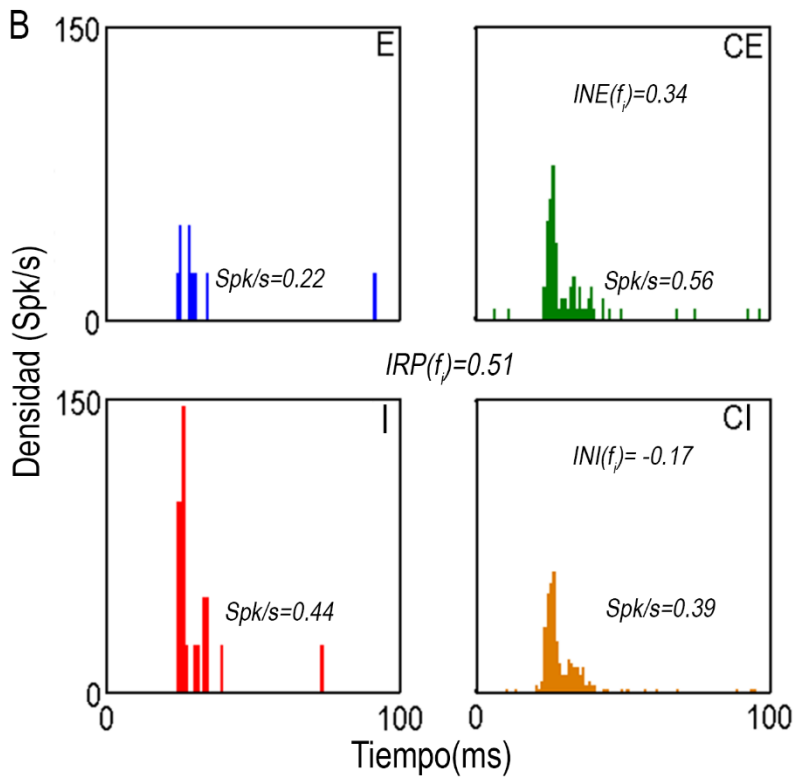
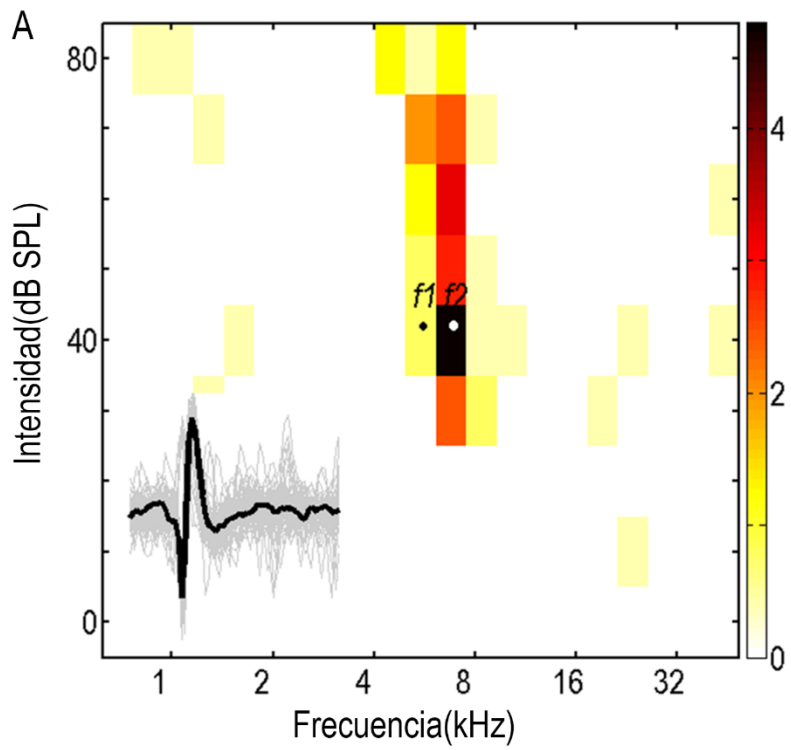


Figura 18. Ejemplo de respuesta a secuencia regularidad local y regularidad global. A. En la figura se observa el área de repuesta (FRA) y la forma de onda de las espigas registradas a partir de $ISI= 250$ ms y un $\Delta F=0.1$. La forma y amplitud del pico es constante lo que indica que los registros se realizaron en unidades individuales. B. Los trazos en los histogramas representan la actividad neuronal (número de espigas/ estímulo; bin de duración: 10 ms) provocados por los estímulos esperados (trazo, azul), inesperados (trazos, rojos), control esperado (trazo, verde) y control inesperado (trazo, naranja).

La figura 19 muestra los resultados a nivel poblacional de los índices de $INE(f_i)$, $INI(f_i)$ y $IRP(f_i)$ como en el apartado anterior donde empleamos los diagramas de dispersión (paneles A, B) que ilustran la comparación de las respuestas para los estímulos empleados en las condiciones esperado/control-esperado [$INE(f_i)$, A] y la comparación para las respuestas de las condiciones inesperado/control-inesperado [$INI(f_i)$, B]. En este caso los índices $INE(f_i)$ y $INI(f_i)$ son significativos solamente para 31 y 38 neuronas respectivamente.

Los valores significativos y positivos [$INE(f_i) = 45\%$; $INI(f_i) = 47\%$; puntos por encima de la diagonal] corresponden a variaciones en las respuestas a los estímulos esperados o inesperados en comparación con sus respectivos controles. Estas respuestas neuronales se caracterizaron por ser más débiles para el estímulo esperado o para el estímulo que estaba rompiendo la expectativa (inesperado). Los valores significativos y negativos [$INE(f_i) = 55\%$; $INI(f_i) = 53\%$ puntos por debajo de la diagonal] mostraron variaciones en las respuestas a los estímulos esperados o inesperados lo que indican una respuesta neuronal más fuerte para el estímulo esperado o para el estímulo que estaba infringiendo la expectativa (inesperado).

El diagrama polar de la Figura 19 C muestra 4 neuronas (3.5% de la muestra total) representadas por vectores paralelos que tuvieron un componente de orientación ortogonal al de las líneas radiales, indicando un cambio genuino en la adaptación entre las condiciones esperado/control-esperado e inesperado/control-inesperado y por lo tanto un valor significativo para el índice $IRP(f_i)$ (rango entre -0.25 hasta 0.51; media = 0.063). Dos de estas neuronas tuvieron valores positivos para $IRP(f_i)$ (vectores que va en dirección de las manecillas del reloj) mientras que las otras 2 neuronas tuvieron valores negativos (vectores en dirección contraria de las manecillas del reloj). Por lo tanto, podemos concluir que estas neuronas mostraron una respuesta diferencial y sensible al patrón de regularidad global y regularidad local.

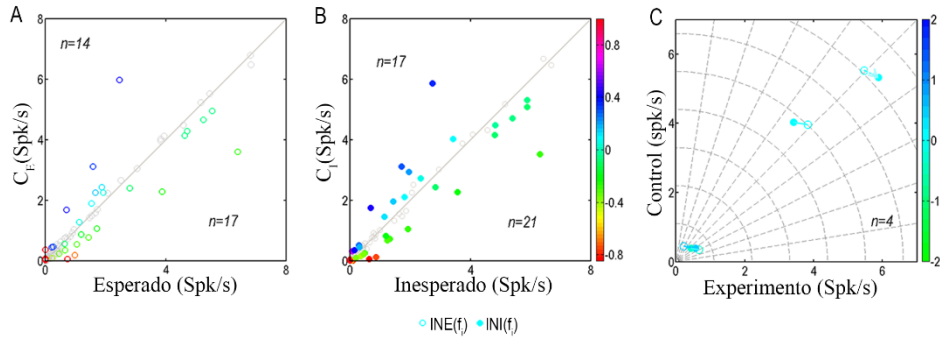


Figura 19. Diagramas de dispersión respuestas neuronales a patrón regularidad global y regularidad local. A-B Cada punto representa los valores de los índices $INE(f_i)$ y $INI(f_i)$ respectivamente. El mapa de color representa los valores que fueron estadísticamente significativos. C. Diagrama Polar donde se representa las neuronas con $IRP(f_i)$ significativo.

Respuestas neuronales del colículo inferior a secuencias con regularidades de nivel

Al igual que en los dos patrones de estimulación precedentes, del total de 153 neuronas registradas en nuestra muestra, hemos analizado la respuesta de 40 de ellas utilizando secuencias donde hemos manipulado un parámetro diferente a la frecuencia; en este caso hemos estudiado variaciones en la intensidad de los sonidos que las conforman. Así pues, para estas secuencias de intensidad seleccionamos diferentes niveles de presión sonora con la misma frecuencia, que era a su vez la mejor frecuencia (BF). Como con los paradigmas anteriores (patrón de alternancia, patrones estímulos con regularidad global y regularidad local) hemos hecho un promedio de sus respuestas evocadas (espigas/estímulo, Spk/s) para las minisecuencias de estímulos esperados e inesperados y las comparamos con sus respectivos controles. A continuación analizamos las respuestas normalizadas para el estímulo esperado $INE(f_i)$ e inesperados $INI(f_i)$ en función de los niveles de intensidad empleados

[5 dB ($n = 4$) ó 10 dB ($n = 36$)]. Por otro lado, para estas neuronas la tasa de repetición que empleamos fue un ISI de 250 ms (4Hz).

La figura 20 ilustra el campo receptivo de una neurona con una respuesta neuronal significativa para esta secuencia y los diferentes niveles de intensidad que hemos empleado en el paradigma (L1 - L4). Además esta neurona presenta un cierto grado de adaptación SSA ($CSI = 0.20$). En los histogramas de tiempo peri-stimulus (Fig. 20 B) se puede observar que la respuesta a la minisequencia del estímulo esperado (E; trazas azules) es mayor en comparación con su correspondiente control (CE; trazas verdes), y tiene un valor significativo para $INE(f_i)$ [$INE(f_1) = -0.16$]. Por otro lado, la respuesta a la mini secuencia del estímulo inesperados (I, trazas rojas) es aproximadamente igual a la respuesta de su correspondiente condición control (CI; trazas naranjas) y el análisis estadístico no revela diferencias significativas para $INI(f_i)$ [$INI(f_1) = 0.03$]. Esta neurona es un ejemplo claro del tipo 'expectativa a la sorpresa' puesto que se observa una respuesta a la minisequencia del estímulo esperado aumentada en comparación con el mismo estímulo cuando este se presenta al azar, mostrando un $IRP(f_i)$ significativo y negativo [$IRP(f_i) = -0.20$].

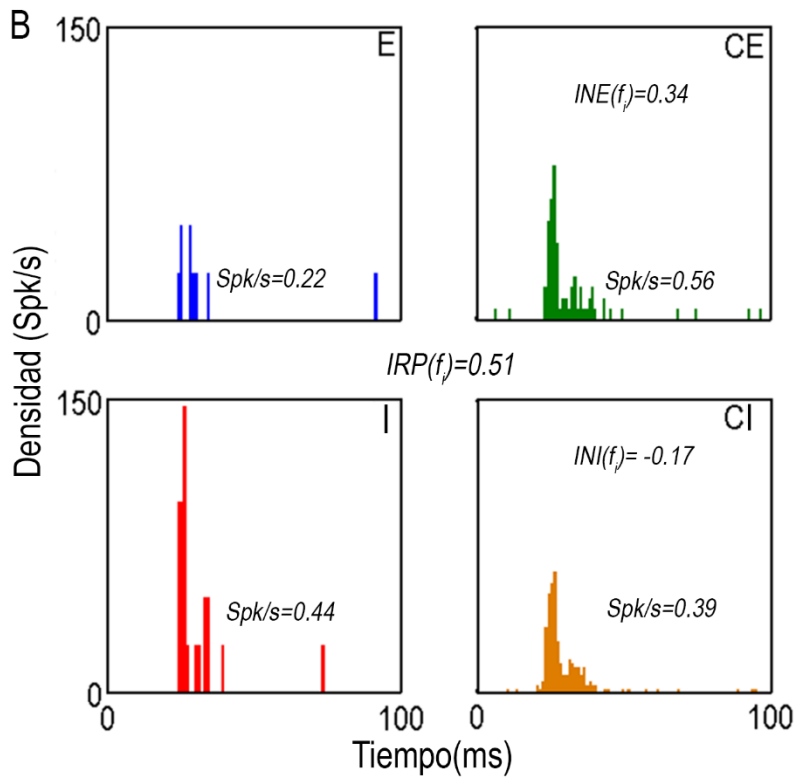
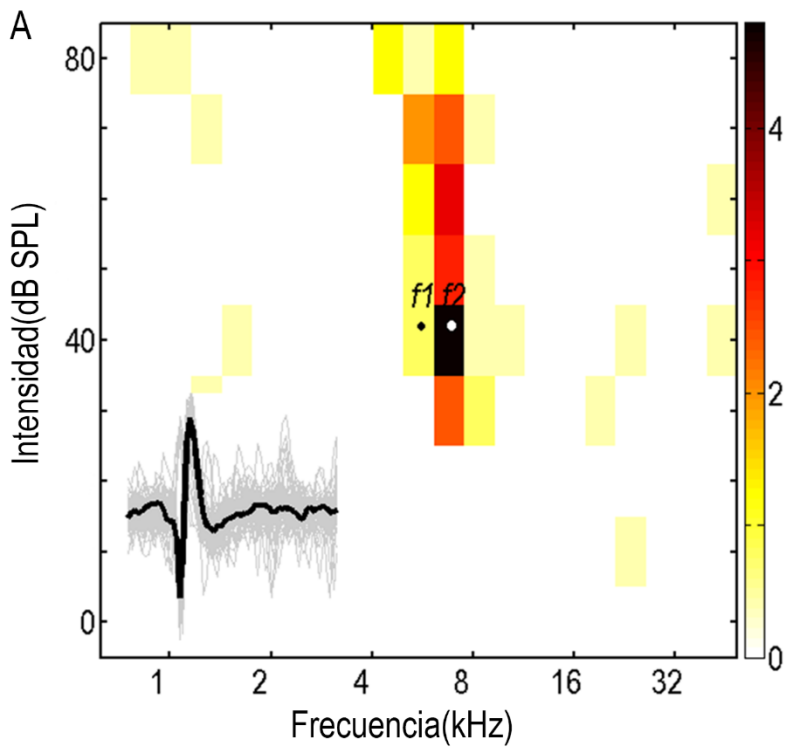


Figura 20. Ejemplo de respuesta a secuencia con regularidad de nivel. A. En la figura se observa el área de repuesta (FRA), la forma de onda de las espigas registradas a partir de $ISI= 250$ ms y un $\Delta F=0.1$. La forma y amplitud del pico es constante lo que indica que los registros se realizaron en unidades individuales. B. Los trazos en los histogramas representan la actividad neuronal (número de espigas/ estímulo; bin de duración: 10 ms) evocados por los estímulos esperados (trazo, azul), inesperados (trazos, rojos), control esperado (trazo, verde) y control inesperado (trazo, naranja).

En los diagramas de dispersión (Fig. 21; paneles A, B) se ilustra la comparación de las respuestas para los estímulos empleados en las condiciones esperado/control-esperado [INE(f_i), A] y la comparación para las respuestas de las condiciones inesperado/control-inesperado [INI(f_i), B]. Trece neuronas mostraron un valor significativo para el índice INE(f_i) (panel A), mientras que, 12 neuronas mostraron un valor significativo para el índice INI(f_i) (panel B). Nuestros resultados revelan una tendencia clara a valores negativos para los índices INE(f_i) y INI(f_i) [INE(f_i) = 77%; INI(f_i) = 75%], lo que demuestra una actividad neuronal incrementada en las condiciones experimentales (miniseuencias de estímulos esperados e inesperados) que se presentan dentro de una secuencia de sonidos presentados de manera regular, en comparación con sus correspondientes condiciones controles que se experimentan dentro de una secuencia de sonidos presentados de manera aleatoria.

En el diagrama polar que se ilustra en la Figura 21 C mostramos 2 neuronas que están representadas por vectores paralelos que tuvieron un componente de orientación ortogonal al de las líneas radiales, indicando un cambio genuino en la adaptación entre las condiciones esperado/control-esperado e inesperado/control-inesperado y por lo tanto un valor significativo para el índice IRP(f_i) [5%; IRP(f_i) = 0.14 y -0.20]. Una vez más este hallazgo confirma una respuesta neuronal evocada diferencial al patrón de estimulación. De la misma manera que las neuronas que respondieron de manera genuina y diferencial para los casos anteriores cuando se estimularon con la secuencia del patrón de alternancia y la secuencia de regularidades globales y regularidades locales, estas respuestas neuronales no pueden ser explicadas por un simple cambio general de la excitabilidad neuronal y por lo tanto creemos que este tipo de neuronas son '*neuronas sensibles patrón de nivel*'.

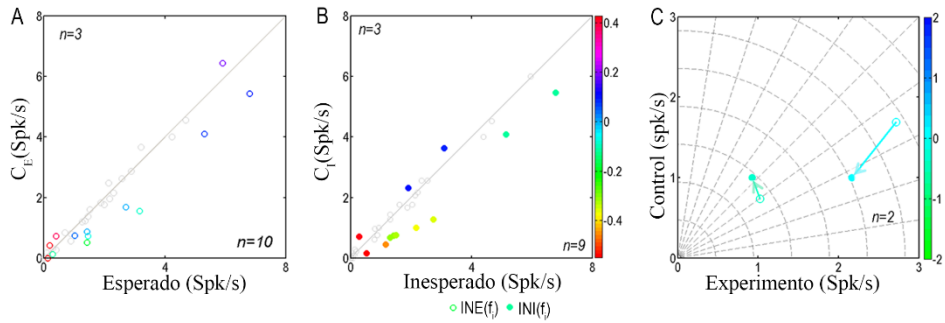


Figura 21. Diagramas de dispersión de respuestas neuronales a patrón regularidad de nivel. A – B, cada punto representa los valores de los índices $INE(f_i)$ y $INI(f_i)$ respectivamente, el mapa de color representa los valores que fueron estadísticamente significativos. C, diagrama polar donde se representa las neuronas con $IRP(f_i)$ significativo.

Respuesta de Neuronas del Colículo Inferior a Omisión de Estímulos

Evidencia de Respuestas de las Neuronas del Colículo Inferior de la Rata Anestesiada a Omisiones de Estímulos

Paradigma de omisión de estímulo (Figura 22)

Para este grupo de experimentos empleamos un total de 396 neuronas, y registramos la actividad evocada para el llamado paradigma de omisión de estímulo (Yabe et al., 1997). Este paradigma es similar al paradigma *oddball* (ver descripción en el capítulo anterior) y consiste en una secuencia regular de sonidos repetitivos estándar pero con omisiones del mismo sonido (baja probabilidad) aleatoriamente donde correspondería a un sonido discrepante.

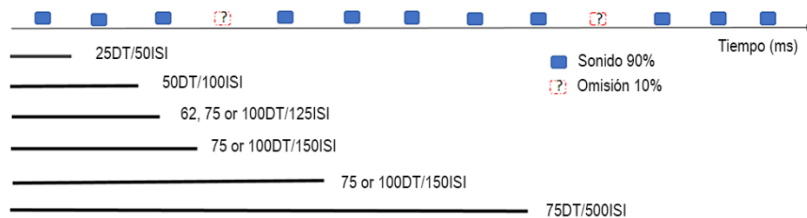


Figura 22. Ilustración esquemática del paradigma de omisión de estímulo. Secuencia regular y repetitiva de un sonido (tono puro 90% de probabilidad, cajas azules) entremezclado aleatoriamente con periodos de silencio del sonido (10% de probabilidad, cajas rojas). Las líneas negras representan las diferentes combinaciones (duración del tono e ISI) experimentadas.

Para simplificar, el paradigma de omisión está formado por 360 sonidos contruidos a partir de un tono puro (25, 50, 62, 75 ó 100 ms, de duración con una rampa 5 ms subida/bajada incluida) para una frecuencia determinada (dentro del campo receptivo de respuesta neuronal FRA) a un nivel de 10 a 40 dB por

encima del umbral. El sonido se presenta como el estímulo estándar (90% de probabilidad de ocurrencia) de manera repetitiva y regular entremezclado aleatoriamente con periodos de silencio con una probabilidad de ocurrencia del 10%. Cada secuencia está compuesta por 400 estímulos que se presentan con una tasa de repetición específica (ISI, 50; 100; 125; 150; 250 ó 500 ms).

Técnica de enfriamiento y desactivación cortical

Para desactivar la corteza auditiva de manera reversible empleamos la técnica de 'enfriamiento cortical' de manera que empleamos un circuito cerrado de refrigeración como se puede observar en la figura 23 (Lomber et, al, 1999). Brevemente, el circuito está formado por un reservorio donde almacenamos metanol, y que hacemos circular a través de un serpentín hasta otro contenedor (una caja con aislamiento térmico poliestireno expandido EPS) que contiene hielo seco, gracias a una bomba peristáltica (MasterFlex L/S modelo 7518 - 00; velocidad 600 r/min) que tiene un tubo de teflón (16" diámetro, ID 56400) para que circule por el mismo el metanol enfriado (temperatura de -75 °C). Sobre los extremos del tubo se acopla una aguja hipodérmica formando un 'anillo de enfriamiento' de unos 3.5 mm que hemos preparado para que ajuste sobre la zona cortical que deseamos enfriar. La temperatura del 'anillo de enfriamiento' se controla a través de una sonda térmica de hilo de cobre que se conecta a un **termómetro digital** (HH11A Ω OMEGA; resolución 0.1; rango de temperatura ente -50° a 1300 °C). Para mantener la temperatura deseada simplemente variamos la velocidad de flujo del metanol con la bomba peristáltica monitoreándola en el termómetro a un nivel deseado de $4 - 5\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durante cualquier periodo de tiempo. Para desactivar el enfriamiento se termina apagando la bomba.

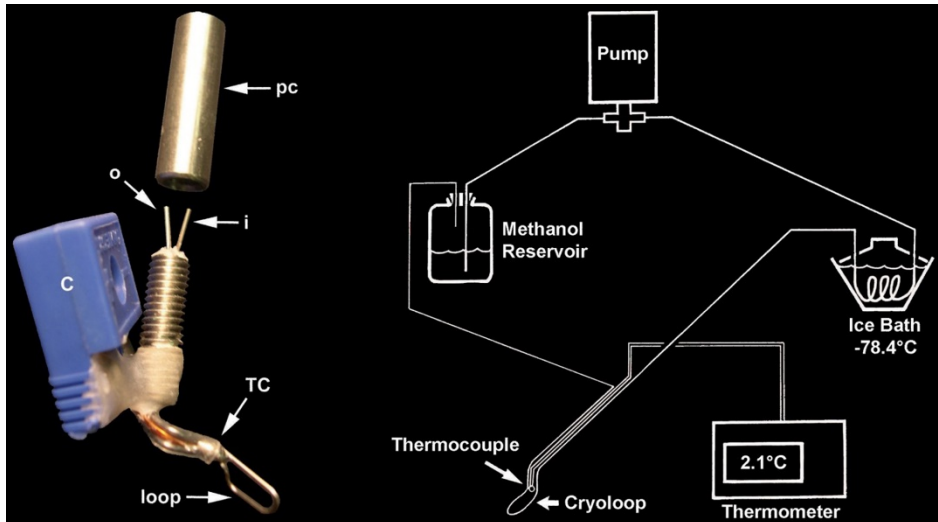


Figura 23. Sistema de enfriamiento cortical. Methanol reservoir (Entrada de la bomba y el filtro); Identificación del tubo de teflón de 16" de diámetro se ilustra con las líneas blancas; (pc) conector del tubo; (c) Tubo de teflón fijado al conector con acrílico dental; conector de sonda térmica; (o y i) cable de la sonda térmica; (TC) sonda térmica; (loop) anillo de enfriamiento construido con agujas con calibre 23 G. Este esquema fue cedido amablemente por el Dr. Stephen Lomber (2015).

Para la desactivación cortical, el 'anillo de enfriamiento' se coloca estereotáxicamente abarcando toda la corteza auditiva (primaria y secundaria, Doron et al., 2002; Polley et al., 2007). Las temperaturas de la corteza auditiva (CA) se registra a través de la sonda térmica que está conectada al 'anillo de enfriamiento' (Fig. 24 tocando la superficie cortical).

Durante el enfriamiento la superficie de la CA se mantuvo a $\sim 5^\circ\text{C}$ por un periodo de 5 min para asegurar la desactivación total, dado que por investigaciones previas, se sabe que temperaturas tan bajas como esta inactiva las 6 capas de la CA (Lomber et al., 1999), pero no afecta las otras regiones subcorticales de la vía auditiva. Al desactivar el enfriamiento, la superficie cortical retorna rápidamente a su temperatura normal (dentro de 3 - 5 min), mientras que, a su vez el colículo inferior vuelve a los niveles pre-enfriados en un periodo de 5 - 10 min. Sin embargo, para garantizar la plena recuperación de la actividad cortical, las respuestas post-enfriamiento solo se registraron una vez que pasaron

al menos 15 min para garantizar que la superficie cortical ha recuperado su temperatura normal (pre-enfriamiento).

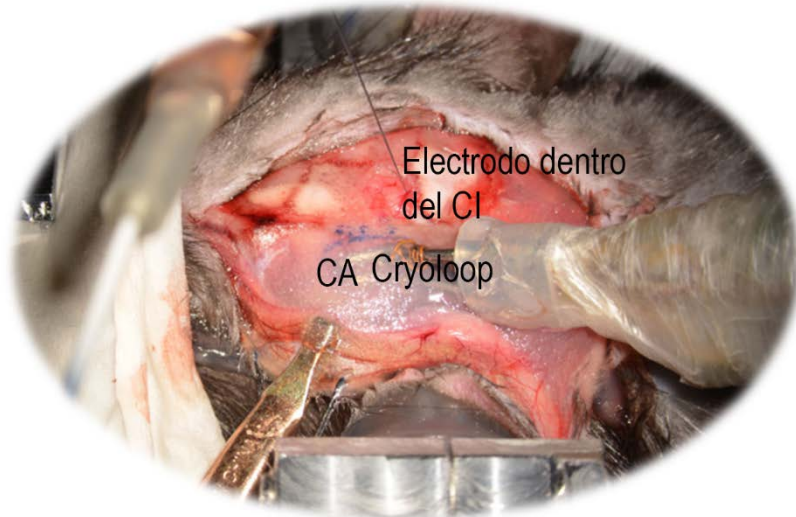


Figura 24. Montaje del sistema de enfriamiento cortical en un animal experimental. Se observa el posicionamiento del anillo de refrigeración en la CA mientras se registra la actividad neuronal en el colículo inferior con un electrodo de tungsteno.

Análisis de datos

Para evaluar el nivel de significancia de la respuesta se usa un test que utiliza el modelo de Poisson para medir la actividad espontánea de la neurona, y luego contrastarla con la actividad evocada para cada uno de los estímulos (omisión y sonido) y poder detectar eventos significativos y dar un p-valor a esta respuesta. Resumiendo, el test de respuesta significativa contrasta la hipótesis nula de que todas las espigas disparadas por la neurona durante todo el PSTH son puramente espontáneas, es decir, que la neurona mantiene una tasa de disparo (*firing rate* en la terminología anglosajona) constante y por tanto '*espontáneo*' durante todo

el PSTH, incluyendo 25 ms antes del inicio del estímulo (sonido u omisión) hasta 25 ms antes del inicio del próximo estímulo. Esta tasa de disparo constante se modela como un proceso de Poisson de constante λ (media del conteo de espigas en todo el PSTH). Concretamente los pasos son:

1. Calcular la tasa de disparo promedio (AFR) de la neurona durante todo el PSTH
2. Para cada combinación de T_0 (inicio de la ventana de tiempo, en relación al inicio del estímulo) y W (ancho de ventana, en ms), calcular la media del conteo de espigas durante una ventana $[T_0, T_0 + W]$, y contrastar este valor observado contra la media de 40 distribuciones Poisson ($AFR * W$) -al ser una media se aproxima por una normal ($\mu = AFR * W$, $\sigma = AFR * W/40$) y se hace un z - test aquí-
3. Se toma el menor de todos los p-valores así obtenidos '*pmin*', para ciertos valores de T_0 y W , y se contrasta contra una distribución empírica de 1000 '*p-valores mínimos*' obtenidos de la misma manera mediante una simulación Montecarlo generada con el modelo de pura actividad espontánea (usando un generador de espigas aleatorias con tasa de disparo constante, que sigue igualmente un modelo de Poisson).
4. El p-valor final del test estará dado por el percentil que ocupe *pmin* dentro de esta distribución de Montecarlo de p-valores mínimos (hipótesis nula)
5. El intervalo de máxima significatividad de la respuesta será el dado por los valores $[T_0, T_0 + W]$ que dieron lugar a este *pmin*

Lo que nos dice este test (de resultar positivo), es que el perfil del PSTH del omisión no es plano, sino que está modulado en el tiempo de forma significativa, respecto del inicio de la omisión (la tasa de disparo es mayor que la media en unos intervalos de tiempo y menor que la media en otros,

medidos en relación al instante donde debería haber comenzado el sonido omitido).

Para cada PSTH que tiene una importante modulación de frecuencia de descarga espontánea durante la presentación del estímulo (sonido u omisión) se lleva a cabo el siguiente procedimiento para obtener sus principales medidas de respuesta:

1. Se calcula la velocidad de disparo espontáneo (SFR) como la velocidad de disparo promedio de 25 ms antes, a 5 ms después, la aparición del estímulo (u omisión de los mismos), y se utiliza como el nivel de disparo de línea de base.
2. Cada PSTH se suaviza a través de una función gaussiana con un modelo de 10 ms (función `ksdensity` en Matlab) y se resta el SFR de la función de densidad de espigas resultante (*Spike Density Function* de la terminología anglosajona SDF) para obtener la función de densidad de espigas corregida (CSDF *'corrected'* o *'Baseline-Corrected-SDF'*).
3. El procedimiento anterior también se lleva a cabo para una distribución MonteCarlo de 1000 PSTHs con pura actividad espontánea generados artificialmente mediante un modelo sencillo con tasa de disparo constante igual a SFR.
4. Los umbrales de disparo críticos superior/inferior son calculados a partir de esta distribución de señales *'nulas'* como los valores de la tasa de disparo que se encuentran por encima/abajo del 97.5% de las muestras CSDF nulas.
5. Un tramo completo de CSDF superior/inferior sobre el nivel de cero se considera un respuesta excitatoria/inhibitoria cuando se cruza el umbral superior/inferior en algún momento, y el área bajo la curva de CSDF se toma durante ese intervalo como una medida no-espontánea de conteo de espigas, o bien, si es

positivo (respuesta excitatoria) o negativo (respuesta inhibitoria). El p-valor asociado a esta medida se calcula a partir de otra distribución de MonteCarlo para las 'áreas de respuesta nulas' extraídas de la distribución de los PSTHs con actividad espontánea pura siguiendo este mismo algoritmo.

Para calcular la latencia *onset/offset* en las neuronas con respuesta significativa, se define como *onset/offset* al instante de tiempo (que se encuentra por interpolación lineal) donde el perfil de CSDF supera por primera/ultima vez el valor crítico durante un cierto intervalo de tiempo mínimo. Por último, la latencia de pico de un SDF, es simplemente el primer punto de tiempo en el que SDF alcanza su máximo valor.

Para evaluar la discriminabilidad entre las respuestas de sonido y de omisión (donde quiera que ocurrieron), se lleva a cabo un análisis de las curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*, acrónimo de la terminología anglosajona o característica operativa del receptor; Tanner y Swets, 1954; Cohn et al., 1975; Fawcett, 2006; para una revisión del uso de las curvas ROC en análisis de datos psicométricos y craneométricos, ver, Stüttgen y Schwarz, 2010). El análisis de las curvas ROC proporciona una herramienta que nos permite calcular el rendimiento posiblemente óptimo (que se basa en conteo de espigas solamente) del mejor discriminador entre las dos respuestas (sonido u omisión). En síntesis, la curva de ROC es una representación gráfica de la probabilidad de detección correcta de omisión (sensibilidad) frente a la probabilidad de detección de 'falsa alarma' de omisión cuando el sonido se produjo (1 - especificidad), según se varía el umbral de discriminación. Dado que la detección es basa solamente en el conteo de espigas, el número de estímulos (*trials* en la terminología anglosajona) se debe clasificar entre uno u otro de los estímulos.

Asumimos a priori que la distribución de los valores para el conteo de espigas en los omisión tendrá valores más pequeños que los valores de la distribución del sonido, por lo que el valor del número de espigas $s \leq S$ se clasifican como '*positivos*' (omisión), y los $s > S$ se consideran '*negativo*' (sonido). La curva del ROC se obtiene empíricamente como el percentil de S en las distribuciones muestreada de respuestas '*omisión*' y '*sonido*', mediante el cálculo del test sensibilidad = $1 - \beta$ y la especificidad = $1 - \alpha$ donde $\alpha = P(\text{falsos positivos})$ y $\beta = P(\text{falsos negativos})$. Las coordenadas correspondiente a los puntos en la curva ROC son determinadas por $[X = \alpha, Y = 1 - \beta]$. Las curvas comienzan siempre en las coordenadas $[0, 0]$, porque para $S = S_{\min} - 1$ todos los números de estímulos (trials) se clasifican como 'sonido' o 'negativo' $\alpha = 0, \beta = 1$; análogamente la curva de análisis termina en las coordenadas $[1, 1]$. Cuando el área es significativamente mayor/menor que 0.5 (curva de ROC encima/debajo de la diagonal) significa que las respuestas en genera de omisión son más pequeñas/mayores que las respuestas de sonido. Fundamentalmente, cuando las áreas bajo la curva (AUC, se interpreta como una métrica de separabilidad o disimilitud entre ambas distribuciones) no son significativamente diferente de 0.5, ambas distribuciones son indistinguibles y las respuestas del sonido y de la omisión se consideran iguales.

Para comparar las características de la tasa de disparo de la respuesta al sonido y a la omisión durante todo el PSTH, se realiza un diferencia de señal (DS), analizando y calculando la diferencia instantánea punto a punto entre los PSTHs (sonido y omisión), y se evalúa las respuesta (tasa de disparo) a las omisiones y al sonido en cada punto del tiempo con respecto al estímulo (o su omisión). Para el análisis de estas DS entre los dos PSTHs, primero calculamos la SDF suavizada para cada uno de ellos como hemos explicado previamente, y hacemos una resta entre ellos para obtener la curva DS. Posteriormente, se evalúa la significatividad estadística aplicando un test

de permutaciones: 40 + 360 (omisiones + sonido) donde el número de estímulos (*trials*) son puestos juntos y se generaron entre ellos 1000 permutaciones aleatorias, y de ellos, 1.000 señales de diferencia 'nulas' se calcularon como se describió previamente. Seguidamente, se realiza el mismo análisis descrito para los perfiles CSDF para detectar el nivel de significatividad en las áreas DS positivos y negativos, y sus p-valores, así como su onset, pico y las latencias offset.

Respuestas de neuronas del colículo inferior a omisiones de estímulos

Con el fin de investigar si las neuronas del colículo inferior son sensibles al paradigma de omisión de sonidos, hemos analizado un total de 1102 respuestas tomadas dentro el campo receptivo neuronal (FRA), usando diferentes combinaciones de duración del estímulo (DT, rango desde 25 hasta 100 ms con 5 ms de rampa subida/bajada) y tasas de repetición (ISI, rango desde 50 hasta 500 ms). En primer lugar hicimos una selección inicial donde descartamos del estudio neuronas que no tuvieron respuesta y/o su respuesta fue mínima (1 o 2 Spk/s, neuronas muy adaptadas). De esta forma seleccionamos 637 respuestas. Además, la actividad neuronal durante el periodo de silencio debe ser significativamente diferente (test de Montecarlo, ver descripción en análisis de datos) de la actividad espontánea. Siguiendo este criterio de selección, 82 respuestas de 67 neuronas fueron clasificadas como '*neuronas omisión*', representando el 17% del total de nuestra muestra.

Propiedades generales de la respuesta de las neuronas omisión

Las neuronas omisión presentan diferentes patrones de respuestas temporales (Fig. 25) lo que sugiere que es una población heterogénea. Basados en este criterio hacemos una clasificación de seis ejemplos típicos de respuesta temporales se muestran en la Figura 25.

La neurona que se ilustra en la Figura 25 A es del tipo encendido con una respuesta transitoria y una latencia muy similar tanto para la respuesta del sonido (puntos y trazas azules) como para la respuesta de la omisión (puntos y trazas rojas). Además esta unidad, al igual que otras unidades con similar patrón de respuesta ($n = 16$), prácticamente no muestran en su respuesta actividad espontánea, por lo que el inicio del potencial evocado se puede ver de forma fiable y señala la aparición de los sonidos y periodos de silencio dentro de la secuencia de estímulos. De la misma manera que la neurona descrita anteriormente, la unidad mostrada en la figura 1E ($n = 16$) es otro ejemplo de respuesta del tipo encendido, pero tiene una característica especial, porque en este caso, la neurona se adapta muy rápidamente tanto al sonido como al omisión. Debido a que la adaptación fue tan rápida y para confirmar que las respuestas eran fiables y reproducibles, se repitió 2 - 3 veces el paradigma de estimulación y lo que se observa es una respuesta igual. Por lo tanto esta respuesta no podría explicarse sólo como el resultado de fluctuaciones aleatorias.

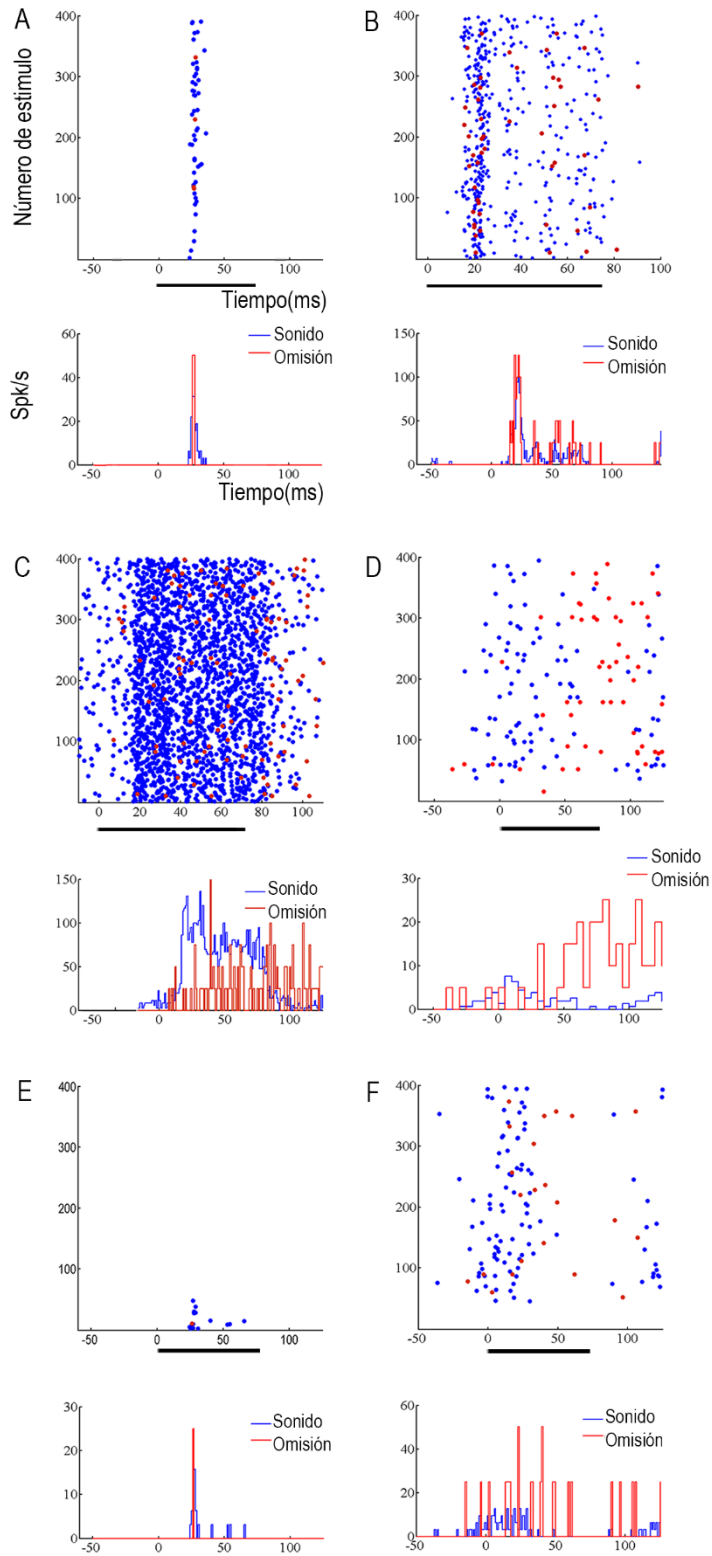


Figura 25. Patrones de respuesta temporal para neuronas omisión. Se representa en la trama de puntos y el PSTH la actividad neuronal (el número de espigas/estimulo, bin de duración 10 ms) para el sonido (puntos y tramas, en color azul) y para la omisión (puntos y tramas, en color rojo). Los tipos de respuesta temporal son: A. tipo encendido, B. encendido-sostenido, C. sostenido, D. Apagado, E. encendido – adaptada, F. predictiva

Otros tipos de repuestas incluyen encendido - sostenido (Fig. 25 B, $n = 20$), sostenidas (Fig. 25 C, $n = 14$) y el tipo apagado (Fig. 25 D, $n = 16$). Por último, encontramos otro tipo, una respuesta muy poco común (Fig. 25 F, $n = 4$) que forma una pequeña subpoblación de neuronas que llamamos '*unidades predictivas*'. Estas neuronas se caracterizan porque no sólo responden a la omisión del sonido sino que también requieren que el sonido se presenta previamente entre 54 y hasta 100 veces antes de que haya una respuesta neuronal. En general, es muy difícil encontrar unidades omisión, por esta razón hemos querido determinar si esta respuesta depende de algunos parámetros específicos o por el contrario esta respuesta es una propiedad general intrínseca de cada neurona. Así que a continuación, hemos probado varias combinaciones de duración del estímulo sonido/omisión y diferentes ISIs.

Los datos que se muestran en la Figura 26 muestra 9 diagramas de dispersión que comparan las respuestas evocadas por los estímulos sonido (Spk/s; eje X) y omisiones (Spk/s; eje Y) e incluyen diferentes combinaciones en los parámetros de duraciones del estímulo para sonido/omisión (25 - 75 ms) e ISIs (50 - 500 ms). Los puntos rojos representan las respuestas significativas a la omisión (prueba de Montecarlo, $p = 0.05$), mientras que los círculos grises indican las respuestas evocada por el sonido y por la omisión del sonido pero que no fueron estadísticamente significativos. Estos gráficos de dispersión revelan dos importantes características: en primer lugar, para la mayoría de las respuestas neuronales la tasa de disparos de la omisión y el sonido son muy similares, y esto se puede ver en las unidades que se encuentran sobre la diagonal, y en segundo lugar, las respuestas al omisión ocurren sólo para ciertas tasas de repetición, es decir, cuando se usan ISIs ≤ 150 ms. Por el contrario, las respuestas a la omisión para ISIs ≥ 250 ms siempre estaban ausentes y/o no fueron estadísticamente significativas. Por lo tanto, llegamos a la conclusión de que la respuesta a la omisión es altamente dependiente de la tasa de repetición.

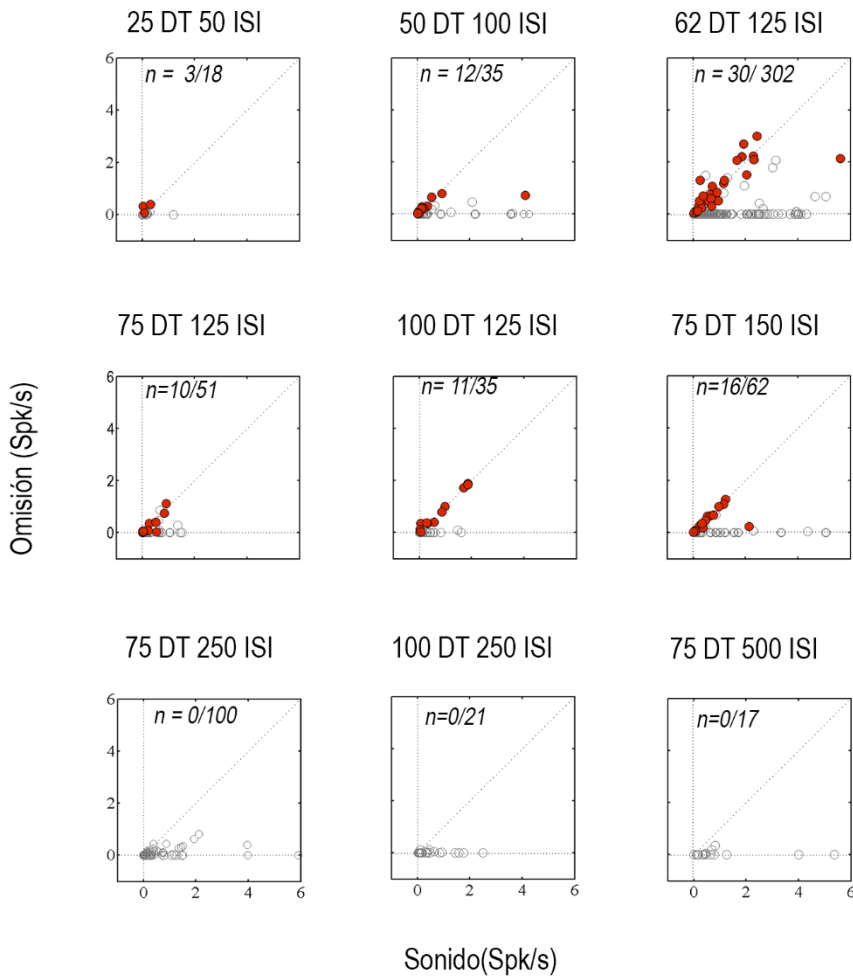


Figura 26. Respuestas evocadas para los estímulos sonido y omisiones. Los diagramas de dispersión correlaciona las respuestas entre las respuestas al sonido (eje X; Spk/s) y la omisión (eje y; Spk/s), los puntos en color rojo son las neuronas estadísticamente significativas al paradigma de omisión de estímulos. Los valores sobre la diagonal denotan igualdad en las respuestas para ambos estímulos.

Por otra parte, hemos seleccionado y experimentado diferentes puntos de frecuencia dentro del FRA, para evaluar si las respuestas a las omisiones se producen en todo el campo receptivo de las neuronas o son específicas para cada frecuencia. En otras palabras, si una combinación frecuencia/intensidad cuando se experimentó dio como resultado una respuesta omisión, tratamos otras combinaciones de frecuencia/intensidad cercana y distante para verificar su

respuesta, pero los resultados revelan que no había una tendencia clara de combinaciones de frecuencias/intensidades que podrían evocar una respuesta de omisión (ver un ejemplo en la figura 27).

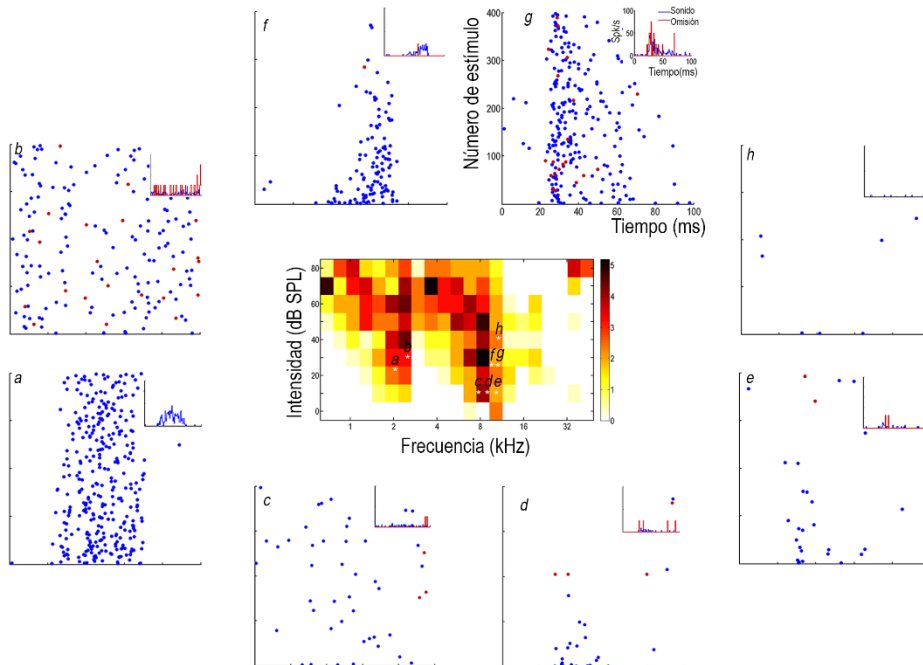


Figura 27. Combinación frecuencia/intensidad en respuestas omisión. Área de respuesta (FRA, código de color) donde se ilustran las diferentes combinaciones frecuencia/intensidad (puntos blancos dentro del FRA) usadas para esta neurona. La trama de puntos y el PSTH es la actividad neuronal evocada (el número de espigas/estimulo, bin de duración 10 ms) para el sonido (puntos y tramas, en color azul) y para la omisión (puntos y tramas, en color rojo). Para esta neurona el único punto (g) muestra respuesta a la omisión de estímulos y es estadísticamente significativo.

Por otra parte, nos dimos cuenta que, en algunos casos, la respuesta neuronal para el paradigma omisión, incluso podría cambiar al repetir el registro con la misma combinación de parámetros, este resultado permite sugerir que se observa algún corto periodo de plasticidad en esta respuesta.

Comparación entre las respuestas al sonido y a la omisión

El análisis de los datos revela un alto grado de similitud entre las respuestas evocadas por la omisión en comparación con la respuesta al sonido, dicho de otra manera las respuestas para los dos estímulos (sonido y omisión) se parecen entre sí. La figura 28 A muestra dos diagramas de caja, que comparan la tasa de disparos entre los estímulos sonoros y la omisión para las neuronas que muestran respuestas estadísticamente significativas y no significativas, respectivamente. Ambos potenciales evocados para las neuronas con respuesta estadísticamente significativa son muy similares (respuesta al sonido, mediana = 0.38 Spk/s; respuestas a la omisión, mediana = 0.339 Spk/s; *test de los rangos con signos de Wilcoxon*, entre la respuesta al sonido y la omisión $Z = -0.1250$; $p = 0,90$), este comportamiento también se representa en la figura 28 B donde gran parte de la población tuvo una relación de 1 : 1 entre la respuesta al sonido y la omisión. Como se observa esta distribución indica que para la mayoría de las unidades omisión, la tasa de disparo tienen casi una relación idéntica (relación 1 : 1). Este hallazgo también es evidente en los gráficos de dispersión de la figura 26.

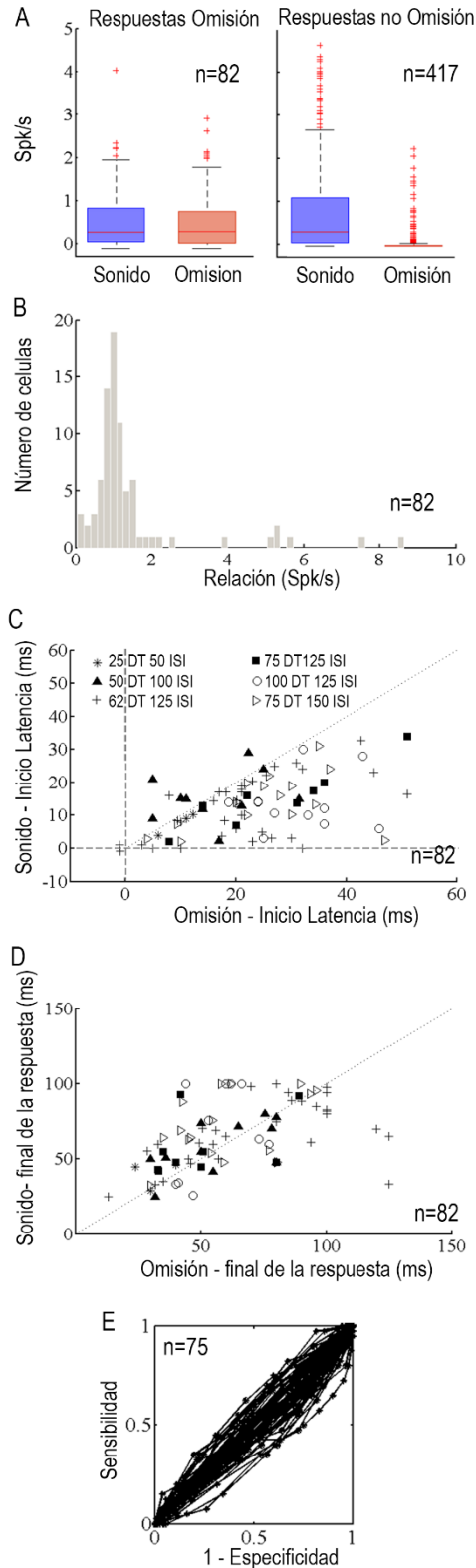


Figura 28. Característica de las respuestas de las neuronas omisión. A. diagrama de caja para neuronas omisión y no omisión (respuesta al sonido, trama azul; respuesta a la omisión, trama roja) donde se observa la similitud en la descarga neuronal (Spk/s) para ambos estímulos en las neuronas omisión. B. Histograma de relación entre los dos estímulos (sonido y omisión) donde se ve una distribución que muestra una relación 1 : 1. C. Diagrama de dispersión donde se correlaciona la latencia para los dos estímulos y las diferentes combinaciones (DT e ISI) usadas, los valores (marcadores) sobre la diagonal indican igualdad en la latencia de inicio. D. Diagrama de dispersión donde se compara la duración de la respuesta para dos estímulos, sus diferentes combinaciones experimentales (DT e ISI), donde no se observa homogeneidad en la duración. E. Curvas de ROC para las neuronas con igual número de espigas entre los dos estímulos

A continuación, comparamos las latencias de las respuestas para la omisión con la del sonido. Los resultados de este análisis revelan que las neuronas que muestran una respuesta significativa a la omisión podrían tener una respuesta en la actividad de la latencia similar (puntos a lo largo de la diagonal, Fig. 28 C) o más larga que para el sonido evocado, como se puede observar en la mayoría de las unidades que se encuentran por debajo de la diagonal. Además, el análisis estadístico empleando la técnica de remuestreo reveló que la población ha tenido un coeficiente de correlación con error estándar de 0.0923 para latencias más largas de la omisión en comparación con el sonido ($n = 74$; rango omisión desde 3 hasta 61 ms; rango sonido desde 0.5 hasta 34 ms), mientras que no mostro ningún tipo de correlación para latencias más cortas ($n = 8$; rango omisión desde 5 hasta 22 ms; rango sonido desde 9 hasta 29 ms). Por último, se realizó una comprobación adicional para probar si la duración de la respuesta de las neuronas significativas a los estímulos de sonido y a las omisiones fueron similares o diferentes (Fig. 28 D). El análisis estadístico (remuestreo) demostró que la mayoría de las neuronas poseen una duración de la respuesta similar (coeficiente de error estándar = 0.0898) pero también hubo respuestas más cortas a la omisión de los estímulos.

Como hemos analizado, la tasa media de disparo de la respuesta a la omisión no era diferente (o no tanto) de la tasa media de disparo de la respuesta al sonido. Para caracterizar mejor la similitud de estas respuestas a nivel unitario, se realizó un análisis empleando las curvas del ROC (ver análisis de datos) para cada una de las respuestas de las neuronas estadísticamente significativas, y lo que se observa es que en la mayoría de las respuestas (Fig. 28 E; 75/82, 92%) el área bajo la curva AUC no fue estadísticamente significativa (ver análisis de datos), lo que indica que ambas distribuciones son similares y por tanto, las respuestas del sonido y de la omisión se consideran iguales. En otras palabras, un observador común no podría distinguir a simple inspección visual si la espiga

de la respuesta neuronal correspondía a una respuesta al sonido o a la omisión del mismo.

Las 7 respuestas restantes tienen un área bajo la curva AUC estadísticamente significativa y se caracterizaron por tener una curva ROC positiva ($n = 3$; por encima de la diagonal) dado que su respuesta es mayor (número de espigas) para el sonido que para la omisión. Estas 3 neuronas tuvieron una respuesta del tipo sostenido a los estímulos de sonido, con una tasa de disparos más alta en comparación con la respuesta omisión. Por otra parte, las neuronas con una curva ROC negativa ($n = 4$; curvas ROC por debajo de la diagonal), se caracterizan por tener un mayor número de espigas en su respuesta a la omisión. Estas 4 neuronas mostraron una respuesta de tipo apagado con una alta tasa de disparo para la respuesta a la omisión. Por lo tanto, la gran mayoría de las respuestas de omisión no son sólo fuertes como la respuesta correspondiente al sonido, sino que también muestran la misma variabilidad estímulo por estímulo.

Finalmente, también hemos analizado el número de estímulos que precede al último estímulo omisión con el fin de comprobar si las respuestas a la omisión necesita un número mínimo de estímulos (sonidos) acumulados previamente o por el contrario podría suceder con muy pocos estímulos presentados. Los resultados de este análisis indican que las respuestas o la omisión se producen tan pronto un sonido se omite, sin importar el número de estímulos (sonido) precedentes.

Los análisis anteriores demostraron que la mayoría de las respuestas al omisión son indistinguibles en comparación con la respuesta al sonido en términos de: fuerza, conteo de espigas estímulo por estímulo, latencia de inicio y la duración de respuesta. Sin embargo, podría presentarse el caso que la tasa de disparo variara a lo largo del tiempo en la respuesta a la omisión. Para comprobar cuál es la característica de la tasa de disparo hemos hecho un test que calcula la

igualdad del perfil de velocidad y área de disparo en toda la respuesta, analizando y calculando la diferencia de señal (DS, ver análisis de datos) entre los PSTHs para la omisión y para el sonido. En otras palabras, calculamos la diferencia instantánea en la tasa de disparo punto a punto en el mismo periodo de tiempo respecto al estímulo (sonido u omisión, ver análisis de datos), para cada respuesta omisión significativa.

En la Figura 29 A - D mostramos casos representativos de cuatro tipos principales de diferencia de señal encontrados en nuestra población con respuestas significativas a la omisión. El primer tipo (Fig. 29 A; $n = 46$) se produce cuando la duración de la respuesta a la omisión y al sonido son iguales e indistinguibles y por lo tanto, la DS no es estadísticamente diferente de cero durante toda la respuesta. El segundo tipo (Fig. 29 B; $n = 10$) muestra una respuesta significativamente mayor para el sonido en comparación con la omisión, es decir también presenta un bloqueo de fase; por lo tanto un DS solo positivo durante una parte o la totalidad de la duración de la respuesta. El tercer tipo (Fig. 29 C, $n = 21$) muestra una respuesta significativamente mayor a la respuesta omisión en comparación con el sonido, que se produce también en fase, así que se puede observar un DS solo negativo durante la duración de la respuesta. Por último, se observa un cuarto tipo de señal DS bifásica (Fig. 29 D, $n = 5$) que indica que las respuestas a la omisión y al sonido se desplazan en el tiempo uno con respecto al otro. Resumiendo, este análisis muestra que más de la mitad de las respuestas omisión registradas tienen un PSTH que es una copia idéntica a de la respuesta del estímulo al sonido.

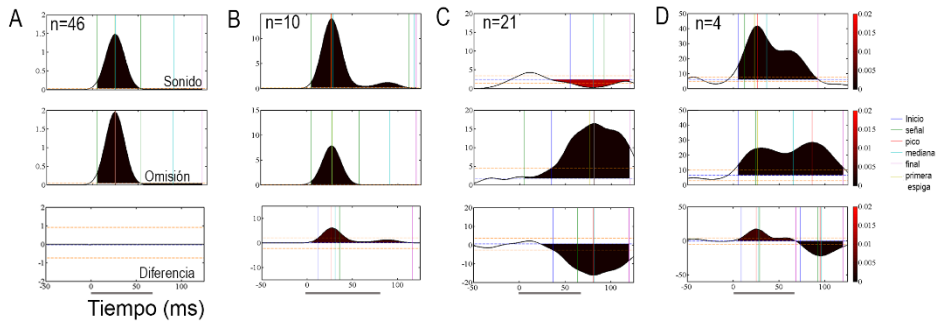


Figura 29. Clasificación de diferencia de señal (DS). La densidad (color negro) representa el área y el volumen de la respuesta, las líneas verticales en colores corresponden a las características de la respuesta [inicio (línea púrpura), pico (línea roja), señal (línea verde), mediana (línea cian), final (línea magenta), primera espiga (línea beige)]. A. DS igual a cero lo que significa una igualdad en la respuesta para los dos estímulos (sonido y omisión). B. DS positiva, caracterizada por una mayor área en los PHTS del sonido. C. DS negativa, donde la respuesta a la omisión fue mayor y en una larga latencia. D. DS bifásica, las respuestas para los dos estímulos varían en el tiempo.

Las respuestas a la omisión del sonido en el colículo inferior se heredan desde la corteza auditiva

La verificación histológica de los sitios de registro (n = 56) señala que todas las neuronas omisión se localizan en las cortezas del colículo inferior: corteza lateral (n = 44), rostral (n = 4) y dorsal (n = 8), una región caracterizada por que recibe un alto grado de inervación desde la corteza auditiva (Herbert et al., 1991; Caicedo y Herbert 1993; Saldaña et al., 1996; Malmierca y Ryugo, 2011). Esta alta conectividad plantea la posibilidad de que las proyecciones corticales descendentes faciliten o incluso impongan las respuestas a las neuronas omisión. Si este fuera el caso, se podría esperar que las latencias de respuesta a la omisión de los estímulos fuese más largas que las del sonido porque su respuesta estaría condicionada hasta recibir el input de la corteza

auditiva, de hecho la distribución de las latencias para los estímulos de la omisión se desplaza a valores más largos comparados con las latencias para los estímulos del sonido (Fig. 28 C). Esto nos permite sugerir que la vía descendente cumple con la función de facilitador y podría ser el principal mecanismo generador de las respuestas omisión. Por lo tanto, para comprobar si esta hipótesis es factible, registramos 21 unidades adicionales (con respuestas estadísticamente significativas) antes (control), durante (efecto) y después (recuperación) de la desactivación de la corteza auditiva mediante la técnica de enfriamiento cortical (Lomber et al., 1999; ver técnica de enfriamiento y desactivación cortical).

La figura 30 muestra 3 ejemplos diferentes de neuronas que poseen una respuesta significativa a la omisión del estímulo y sus correspondientes FRAs antes (control), durante (efecto) y después (recuperación) de la desactivación cortical. En estos 3 casos, y en los otros (no mostrados), podemos observar que durante la desactivación cortical la forma del FRA de la neurona cambia y lo que es más importante, la respuesta a la omisión del estímulo es cesa totalmente mientras que la respuesta al sonido, se si mantiene, aunque debemos observar también que se reduce o se afectada de una manera diferencias como se puede observar en el ejemplo mostrado en la figura. 30 C, donde esta neurona posee una latencia larga (alrededor de 40 ms), tanto en las respuestas para la omisión como para el sonido.

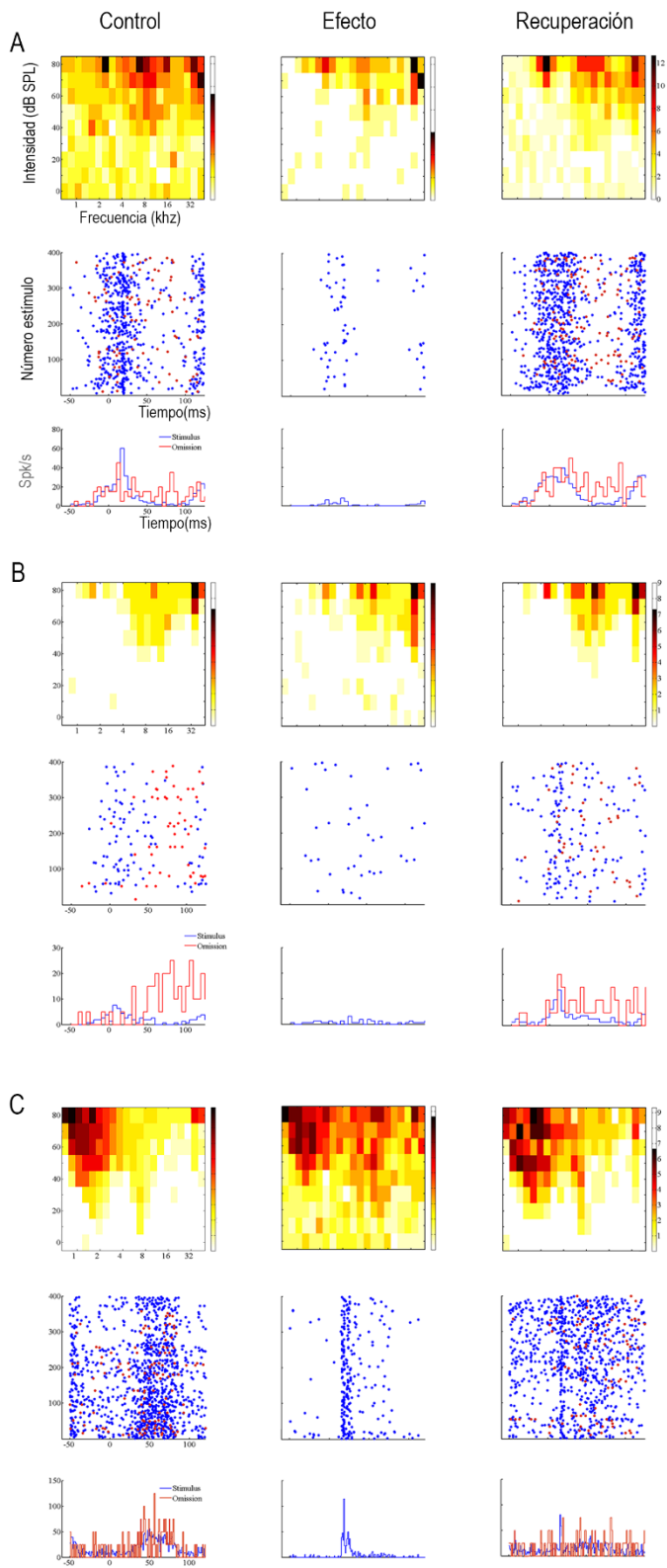


Figura 30. Efectos antes, durante y después de la desactivación cortical en las neuronas del colículo inferior. Ejemplo de 3 neuronas del colículo inferior antes (control), durante (efecto) y después (recuperación) de la desactivación de CA. Para cada neurona se muestra el FRA (área en color); la respuesta de las neuronas al paradigma de omisión de estímulos como tramas de puntos (sonido, puntos azules; omisión, puntos rojos), el eje X corresponde al tiempo (TD, 62 ms ISI 125), mientras que Y son los 400 estímulos. Los histogramas de tiempo peri-estímulos muestran el número de espigas/estímulos (Spk/s; duración del bin 10 ms, sonido, trama azul; omisión, trama roja).

Para este caso en particular, la desactivación cortical no sólo elimina esta larga latencia de respuesta a la omisión del estímulo y al sonido, sino que también cambia el tipo de respuesta (del tipo sostenido cambia al tipo encendido) y por lo tanto muestra una corta latencia que no está presente en la condición control y, que presumiblemente, se origina a nivel local dentro del colículo inferior o desde las entradas del tronco cerebral, por lo tanto se podría afirmar que esta respuesta está inhibida por la proyección corticocolicular. Desafortunadamente el registro de esta unidad neuronal se perdió antes de que recuperase totalmente su respuesta a la omisión. Sin embargo se puede observar que su patrón de respuesta tiende a recuperarse y se parece bastante a su respuesta inicial (control).

Los datos a nivel poblacional ilustrados en la Figura 31 A muestran que la respuesta a la omisión del estímulo para estas 21 unidades analizadas durante la desactivación cortical se ven profundamente afectadas y son fuertemente influenciadas por la vía corticocolicular (Fig. 31 B; mediana tasa de disparando a la omisión = 1.2 y 0 Spk/s; para las condiciones control y efecto respectivamente; mediana tasa de disparando al sonido = 1.3 y 0.25 Spk/s, para las condiciones control y efecto respectivamente; *test de los rangos con signos de Wilcoxon* entre las medianas para las condiciones control y efecto $Z = 5.46$ y 3.51 para la omisión del estímulo y el sonido respectivamente, $p < 0.0001$, para ambos estímulos).

Las figuras 31 B, C muestran que todas las neuronas sensibles a la omisión del estímulo (excepción en 3 casos) registradas se recuperan tras el calentamiento de la corteza auditiva y su vuelta a la temperatura normal ($n = 18$; mediana tasa de respuesta a la omisión = 1.2 y 1.1 Spk/s, control y recuperación respectivamente; mediana tasa de disparo al sonido = 1.3 y 1.18 Spk/s, control y recuperación respectivamente; *test de los rangos con signos de Wilcoxon* entre las medianas entre las condiciones control y recuperación $Z = 0.19$ y 0.22 , $p = 0.84$ y 0.82 , para la omisión y el sonido respectivamente). Con el fin de descartar los efectos directos del enfriamiento en el colículo inferior, se realizó un

experimento en el que se registró la temperatura en el colículo inferior y la cóclea ipsilateral, mientras enfriamos la corteza auditiva (Fig. 31 D).

El control de la temperaturas muestra una pequeña caída en la temperatura del colículo inferior (aproximadamente $-3 - 4\text{ }^{\circ}\text{C}$) pero nunca por debajo de $31.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Fig. 31 D, traza negra), Por otra parte, los datos del control para la temperatura en la cóclea ipsilateral se mantuvo en $36.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Fig. 31 D, traza roja) y solo registran una caída de temperatura media de $< 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante el proceso de enfriamiento cortical. Por lo tanto, podemos concluir que los efectos que observamos no son debidos a la propagación de la baja temperatura en la corteza auditiva que provocase artefactos en el colículo inferior o la cóclea ipsilateral.

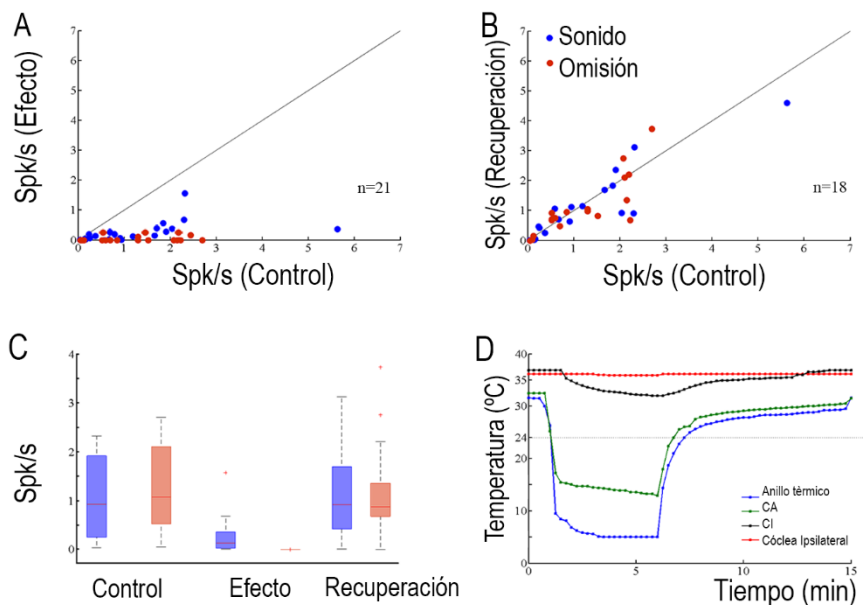


Figura 31. Efecto de la desactivación cortical en las respuestas de las neuronas omisión del colículo inferior. A-B. Diagramas de dispersión de las respuestas (espigas/estímulo) de la población neuronal para la omisión (puntos rojos) y el sonido (puntos azules) para las diferentes condiciones, (condición control comparada con condición efecto; condición control comparada con condición recuperación). C. Diagrama de cajas donde se muestra la distribución de los valores para cada uno de los estados (trazas azules corresponde a la respuesta al sonido, las trazas rojas son las respuestas a la omisión). D. control de la temperatura (colículo inferior, línea negra; corteza auditiva, línea verde; Cóclea ipsilateral, línea roja; anillo térmico, línea azul).

Discusión

Discusión

El objetivo principal de nuestra tesis fue investigar la codificación de la regularidad y su ruptura en la presentación de una secuencia de sonidos así como determinar si en una secuencia de sonidos se puede detectar la omisión de uno de los estímulos esperados (paradigma de omisión de sonidos, Yabe et al., 1997) en el colículo inferior de la rata anestesiada. Las secuencias de las regularidades fueron definidas por la presentación de tonos regulares y repetitivos, que ocasionalmente contenían alteraciones o rupturas de esta regularidad, en forma de una repetición frecuente de cualquiera de los tonos. Nuestros resultados muestran evidencias muy significativas de que algunas neuronas del colículo inferior son sensibles a las alteraciones de estas regularidades complejas, de manera que se observan incrementos o supresiones en las respuestas neuronales que se mantuvieron incluso cuando la respuesta esperada o inesperada se compara con la respuesta al mismo estímulo en su condición control, que era físicamente idéntico y que ocurrió dentro de la misma minisequencia local como el estímulo esperado o inesperado, pero fue incorporado al azar en un contexto global aleatorio (Ruhnau et al., 2012; Schröger y Wolff 1996). Los diferentes controles que probamos nos permiten asegurar que las respuestas diferenciales observadas en secuencias con regularidades no pueden ser explicadas por una mera adaptación neuronal, sino que es más bien el resultado debido a la historia de estimulación previa. Esto sugiere que el colículo inferior es capaz de asociar los sonidos no adyacentes dentro de la estructura más global de una secuencia y por lo tanto está implicado en la codificación de regularidades más complejas (Bendixen et al., 2012).

Investigaciones realizadas en neuronas de la corteza auditiva de rata anestesiada revelaron respuestas diferenciales a secuencias de tonos aleatorios

y periódicos, utilizando el paradigma *oddball* en el que el orden de las presentaciones de los estímulos fue periódico o no. Los resultados de estos experimentos demuestran que los tonos en secuencias periódicas provocaron respuestas evocadas más pequeñas que los mismos tonos cuando se presentan en secuencias aleatorias (Yaron et al., 2012). Para evaluar la sensibilidad de codificación del colículo inferior a las secuencias de sonido periódicas y aleatorias, de una manera conceptualmente similar a los llevados a cabo por Yaron et al. (2012), en nuestra tesis hemos comparado las respuestas de las neuronas del colículo inferior a tonos inesperados y esperados que se presentaban tanto de manera regular (condiciones experimentales) como en un contexto global aleatorio (condiciones control). Claramente, algunas neuronas del colículo inferior aumentan sus respuestas a los estímulos cuando se presentaron de una manera aleatoria en comparación que cuando estos estímulos se presentan en una secuencia regular. El patrón detallado de estas diferencias depende de la probabilidad desviada.

La sensibilidad a las características más finas del orden de presentación del tono tiene posibles implicaciones en el tratamiento de regularidades estadísticas y es uno de los mecanismos claves disponibles para los bebés humanos y los adultos cuando se enfrentan a los problemas de la segmentación del flujo del habla (Saffran, Aslin, y Newport, 1996) así como para la extracción de las regularidades dentro de un contexto más global (Gómez, 2002; Peña, et al., 2002). Toro y Trobalón (2005) exploraron habilidades de aprendizaje estadístico en ratas en el contexto de experimentos de segmentación de voz. En una serie de cinco experimentos, estos autores estudiaron si las ratas pueden calcular las estadísticas necesarias para detectar segmentos sintetizados de una conversación fluida y detectar regularidades asociadas con estructuras gramaticales. Sus resultados demuestran que las ratas puede detectar los segmentos de las expresiones que utilizan la frecuencia de co-ocurrencia entre

los elementos (no probabilidades de transición, como hacen los bebés humanos). Estos resultados sugieren que debe existir algún mecanismo básico de aprendizaje estadístico incluso en animales inferiores no primates.

Nuestros resultados sugieren un correlato neural para tal sensibilidad. Además, estos resultados sugieren que la información estadística acumulada durante secciones muy largas influye en la actividad neural. Así, mientras que la complejidad de estas secuencias esta, obviamente, muy por debajo de las que aparecen en el lenguaje o la música, la capacidad de las ratas para codificar secuencias aleatorias y secuencias periódicas diferencialmente puede sugerir la presencia de las capacidades requeridas para procesar estos estímulos naturales.

Además, es notable señalar que las neuronas muestran un cambio en la excitabilidad general cuando los mismos sonidos se presentan al azar en lugar de cuando se presentan en un patrón repetitivo, lo cual sugiere que puede ser una modulación de control de ganancia de la respuesta. Esta interpretación es muy sugerente en relación a la formación de objetos auditivos (Nelken y Bar-Yosef, 2008; Winkler et al., 2009), y también puede mostrar la existencia de mecanismos que codifican regularidades más complejas en los diferentes niveles a lo largo de vía auditiva, que esta descrita como altamente jerárquica (Escera y Malmierca, 2014).

Por otra parte, otro de nuestros objetivos era saber si la respuesta neuronal de las neuronas que eran sensibles a las regularidades de las secuencias lo seguían siendo con el paso del tiempo, y por lo tanto se repitió la secuencia con los patrones de regularidades en algunas neuronas una, dos o tres veces con periodos de dos minutos sin estimulación. Los resultados mostraron que las respuestas neuronales eran constantes y sostenidas en el tiempo. La sensibilidad de las neuronas para el contexto global podría ser

utilizada para la unión de objetos auditivos a lo largo tiempo (Bregman, 1990; Nelken et al., 2003; Ulanovsky et al., 2004), un fenómeno que es esencial en el procesamiento de escenas auditivas complejas (Bregman, 1990). Esta sensibilidad también puede ser utilizada para la optimización de la codificación de sonidos (Brenner et al., 2000; Fairhall et al., 2001) y para elaborar una huella de memoria sensorial que puede identificar la complejidad de la estimulación auditiva del pasado (Näätänen et al., 2001).

Una de las múltiples tareas de nuestro cerebro es formar representaciones significativas de la información acústica entrante. Nuestros resultados empleando el paradigma de omisión de sonidos son pioneros porque muestran respuestas neuronales a la omisión del estímulo en algunas neuronas del colículo inferior. La integración temporal es una estrategia muy plausible de cómo el cerebro podría extraer de manera eficiente la información de ambientes acústicos naturales. Algunas teorías sugieren que nuestras percepciones auditivas no corresponden a la realidad acústica presente inmediatamente, sino más bien es el resultado de la integración temporal durante una ventana deslizante de 150 - 200 ms de duración llamada la ventana temporal de la integración (Cowan, 1984, Näätänen, 1990, 1992). Por lo tanto, las secuencias que entran en esta ventana de integración temporal deben codificarse de manera integral como eventos unitarios en la corteza auditiva. *'La suma del sonido temporal y el enmascaramiento hacia atrás'* son considerados tradicionalmente como prueba del comportamiento para la ventana temporal de integración (Hawkins y Presson, 1986).

Nuestros resultados se correlacionan con esta amplia literatura que habla sobre la ventana de integración temporal en humanos estimada alrededor de 150 -200 ms (Yabe et al., 1997), pues el hecho de que la respuesta neuronal para algunas de las neuronas que hemos estimulado con al paradigma de omisión este limitada solo a intervalos entre estímulos de ≤ 150 ms nos lleva a sugerir la

existencia de un proceso sensorial, que activa mecanismos de comparación cuando la duración de la brecha de silencio entre tonos sucesivos se acorta de manera que cada estímulo sucesivo estaría en la misma ventana de integración temporal que el estímulo anterior. En este caso, la omisión de estímulo podría causar un cambio en el evento auditivo unitario percibido que emerge del proceso de integración temporal y activaría el mecanismo de comparación en el momento de la omisión (Yabe et al., 1997, 1998). Obviamente, encontrar el mismo límite que utiliza los seres humanos en los animales sugiere que esto puede ser común entre muchas especies, o que cualquier forma de comunicación (habla humana o vocalización en animales) se adapta a esta ventana temporal.

Sin embargo, no podemos ignorar otros estudios en humanos usando EEG, donde se utilizan filtros pasa bajos y pasa altos y que presentan explicaciones alternativas que afirman que con altas tasas de presentación la corteza no disminuye sus respuestas transitorias, pero aumenta un tipo de actividad sostenida y las respuestas a las omisiones se producirían debido a un desplazamiento de esta actividad sostenida (*'repuestas de rebote'*, May y Tiitinen, 2010). En otras palabras, estos autores afirman que la capacidad de respuesta de la corteza auditiva no es abolida por intervalos entre estímulos cortos sino, más bien, es el resultado de la actividad provocada por el estímulo anterior que se mantiene durante los intervalos entre estímulos cortos en forma de actividad sostenida.

Estos intervalos entre estímulos tan cortos provocarían en el sistema auditivo que este terminasen *'adaptándose'* a las secuencias donde se omiten estímulos y esto produciría como resultado una disminución repentina de la actividad sostenida que incluso podría estar acompañada por una respuesta que se parecería mucho la respuesta normal de desplazamiento después del final de un estímulo de larga duración (Picton et al., 1978a, 1978b; Scherg et al., 1989).

Esta explicación también podríamos considerarla válida para algunas neuronas de nuestros datos que presentan patrones de respuesta evocada (las denominadas apagadas, Fig. 25 D) para la omisión al final del estímulo y con una larga latencia en comparación con la respuesta evocada por el sonido. Pero el hecho que tengamos respuestas neuronales a la omisión donde las neuronas evocan una respuesta al comienzo del estímulo y que esta respuesta es bastante robusta y congruente como la respuesta al sonido habla por sí misma en contra de un efecto de rebote.

Otro aspecto importante de nuestros resultados es que las respuestas a la omisión son muy específicas, en el ejemplo (por ejemplo, en la Fig. 27 sólo para el punto g en el FRA) se muestra lo que parece ser una frecuencia que está cerca de la mejor frecuencia (aunque la FRA tiene clase de dos picos aquí), pero curiosamente es una única combinación de frecuencia e intensidad donde la neurona muestra la respuesta a la omisión del estímulo, con una sincronización precisa, donde la mayoría de las descargas se extiende alrededor de ~30 ms. Todo ello podría sugerir que probablemente se necesita este momento preciso para que una respuesta omisión pueda ocurrir.

Notablemente, nuestros resultados de desactivación cortical aportan una gran evidencia que apoya el modelo de predicción jerárquico propuesto por Friston (2003), en el cual se indica que la percepción surge de la integración de la información sensorial del medio ambiente y nuestras predicciones basadas en un modelo que causó la información sensorial. El error de predicción se reduce al mínimo a través de interacciones recurrentes entre los niveles de una jerarquía cortical a fin de estimar la causa más probable de la entrada (Friston, 2003, 2005).

Dicho de otra manera, la teoría de codificación predictiva postula que la percepción se basa en los sistemas neuronales jerárquicamente organizados, en

la que cada nivel compara las predicciones de las zonas de más alto nivel con la información de las zonas más bajas (Rao y Ballard, 1999; Yuille y Kersten, 2006).

Nosotros encontramos que al desactivar la corteza auditiva mientras registrábamos en el colículo inferior, la generación o el mantenimiento de la respuesta a la omisión es totalmente abolida a pesar de que la misma neurona había tenido previamente un modelo que predijo una respuesta a la omisión del sonido y cuando hemos recuperado la temperatura normal de la corteza la respuesta a la omisión vuelve a aparecer. Esto nos permite sugerir que sólo la corteza le da un '*perspectiva de plasticidad*' a la respuesta en las conexiones entre múltiples niveles jerárquicos. Los resultados de enfriamiento cortical también nos permiten tener una interpretación y nos da una visión verdaderamente importante de la organización a gran escala del sistema auditivo.

Estos resultados indican que la adaptación no es suficiente para explicar la generación de la respuesta evocada, ni tampoco se podría hacer solo basados en el modelo de ajuste. En otras palabras, este tipo de respuestas evocadas no puede explicarse por cambios en las conexiones de sensibilidad post-sináptica o intrínsecos solamente; ni puede ser explicado por cambios exclusivos en conexiones extrínsecas. Este resultado es importante porque es compatible con un modelo que combina tanto la hipótesis de ajuste del modelo (Winkler et al., 1996) y la hipótesis de adaptación (Jääskeläinen et al., 2004) en un marco unificado y más general de codificación predictiva.

Por otra parte, la codificación predictiva incrementa la actividad sináptica, la sensibilidad y la plasticidad en el mismo esquema de optimización. Esto es importante porque la inferencia óptima requiere tanto la optimización de las representaciones neuronales, los cambios en la capacidad de respuesta y la eficiencia sináptica. Además, se muestra cómo la detección de la novedad, la adaptación y el modelo de ajuste pueden ser entendidos como aspectos de la

misma optimización perceptual. En pocas palabras, la codificación predictiva reconcilia modelos aparentemente distintos y ofrece un mecanismo neurobiológico para su generación, que incorpora tanto la adaptación y el modelo de ajuste (Garrido et al., 2009).

Si bien es cierto que no tenemos pruebas concluyentes como las presentadas anteriormente para explicar los mecanismos que generan la respuesta neuronal obtenidas para las neuronas que mostraron detección a los patrones complejos, estas respuestas no puede ser explicadas puramente mediante un simple cambio global en la excitabilidad, por el contrario nuestros resultados pueden ser reveladores de la existencia de un nuevo tipo de respuesta que no se puede explicar fácilmente por la SSA (Fishmann et al 2012) y que sugiere una verdadera detección de la novedad auditiva y podríamos sugerir que también se ajusta al modelo de codificación predictiva (Friston 2003, 2005; Garrido et al, 2008).

Conclusiones

Conclusiones

1. Las neuronas del colículo inferior muestran una respuesta diferencial a patrones complejos de estimulación y por lo tanto están implicadas en la codificación de regularidades complejas.
2. El colículo inferior posee al menos cuatro tipos neuronales: *'supresión para la expectativa'*; *'incremento para la sorpresa'*; *'expectativa para la sorpresa'* y *'supresión de la sorpresa'*.
3. Algunas neuronas del colículo inferior pueden generar respuestas especificadas en ausencia de estímulo auditivo cuando los intervalos son inferiores a 150 milisegundos.
4. La corteza auditiva ejerce un control sobre la generación o el mantenimiento de respuesta a la omisión de sonidos y por lo tanto nuestros resultados aportan evidencias que apoyan la organización jerárquica del modelo de codificación predictiva.

Referencias

Referencias

- Aaltonen, O., Niemi, P., Nyrke, T. & Tuhkanen, M., 1987. Event-related brain potentials and the perception of a phonetic continuum. *Biological Psychology*, 24(3), pp.197–207.
- Alain, C., Woods, D.L. & Ogawa, K.H., 1994. Brain indices of automatic pattern processing. *Neuroreport*, 6(1), pp.140–4.
- Anderson, L.A., Christianson, G.B. & Linden, J.F., 2009. Stimulus-specific adaptation occurs in the auditory thalamus. *The Journal of Neuroscience*, 29(22), pp.7359–63.
- Antunes, F.M., Nelken, I., Covey, E. & Malmierca M.S., 2010. Stimulus-specific adaptation in the auditory thalamus of the anesthetized rat. *PLoS One*, 5(11), p.e14071.
- Baldeweg, T., 2006. Repetition effects to sounds: evidence for predictive coding in the auditory system. *Trends in Cognitive Sciences*, 10(3), pp.93–4.
- Bäuerle, P., von der Behrens, W., Kössl, M. & Gaese B.H., 2011. Stimulus-specific adaptation in the gerbil primary auditory thalamus is the result of a fast frequency-specific habituation and is regulated by the corticofugal system. *The Journal of Neuroscience*, 31(26), pp.9708–22.
- von der Behrens, W., Bäuerle, P., Kössl, M. & Gaese B.H., 2009. Correlating stimulus-specific adaptation of cortical neurons and local field potentials in the awake rat. *The Journal of Neuroscience*, 29(44), pp.13837–49.
- Bendixen, A., Prinz, W., Horváth, J., Trujillo-Barreto, N.J. & Schröger E., 2008. Rapid extraction of auditory feature contingencies. *NeuroImage*, 41(3), pp.1111–9.
- Bendixen, A., Roeber, U. & Schröger, E., 2007. Regularity extraction and application in dynamic auditory stimulus sequences. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 19(10), pp.1664–77.
- Bendixen, A., SanMiguel, I. & Schröger, E., 2012. Early electrophysiological indicators for predictive processing in audition: a review. *International Journal of psychophysiology*, 83(2), pp.120–31.

-
- Bendixen, A. & Schröger, E., 2008. Memory trace formation for abstract auditory features and its consequences in different attentional contexts. *Biological Psychology*, 78(3), pp.231–41.
- Bregman, A.S., 1990. Auditory Scene Analysis. The Perceptual Organization of Sound. Cambridge, MA:MIT Press.
- Caicedo, A. & Herbert, H., 1993. Topography of descending projections from the inferior colliculus to auditory brainstem nuclei in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 328(3), pp.377–92.
- Cohn, T.E., Green, D.G. & Tanner, W.P., 1975. Receiver operating characteristic analysis. Application to the study of quantum fluctuation effects in optic nerve of Rana pipiens. *The Journal of General Physiology*, 66(5), pp.583–616.
- Cornella, M., Leung S., Grimm, S., & Escera, C., 2012. Detection of simple and pattern regularity violations occurs at different levels of the auditory hierarchy. *PloS One*, 7(8), p.e43604.
- Cowan, N., 1984. On short and long auditory stores. *Psychological Bulletin*, 96(2), pp.341–70.
- Doron, N.N., Ledoux, J.E. & Semple, M.N., 2002. Redefining the tonotopic core of rat auditory cortex: physiological evidence for a posterior field. *The Journal of Comparative Neurology*, 453(4), pp.345–60.
- Escera, C. & Malmierca, M.S., 2014. The auditory novelty system: an attempt to integrate human and animal research. *Psychophysiology*, 51(2), pp.111–23.
- Farley, B.J., Quirk, M., Doherty, J.J. & Christian E.P., 2010. Stimulus-specific adaptation in auditory cortex is an NMDA-independent process distinct from the sensory novelty encoded by the mismatch negativity. *The Journal of Neuroscience*, 30(49), pp.16475–84.
- Fishman, Y.I. & Steinschneider, M., 2012. Searching for the mismatch negativity in primary auditory cortex of the awake monkey: deviance detection or stimulus specific adaptation?. *The Journal of Neuroscience*, 32(45), pp.15747–58.
- Ford, J.M. & Hillyard, S.A., 1981. Event-related potentials (ERPs) to interruptions of a steady rhythm. *Psychophysiology*, 18(3), pp.322–30.

-
- Friston, K., 2005. A theory of cortical responses. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 360(1456), pp.815–36.
- Friston, K., 2003. Learning and inference in the brain. *Neural Networks*, 16(9), pp.1325–52.
- Gao, P.P., Zhang, J.W., Cheng, J.S., Zhou, I.Y. & Wu Ed.X., 2014. The inferior colliculus is involved in deviant sound detection as revealed by BOLD fMRI. *NeuroImage*, 91, pp.220–7.
- Garrido, M.I., Friston, K., Kiebel, S., Stephan, K.E., Baldeweg, T. & Kilner, J.M., 2008. The functional anatomy of the MMN: a DCM study of the roving paradigm. *NeuroImage*, 42(2), pp.936–44.
- Garrido, M.I., Kilner, J.M., Stephan, K.E. & Friston, K. 2009. The mismatch negativity: a review of underlying mechanisms. *Clinical Neurophysiology*, 120(3), pp.453–63.
- Gil-Loyzaga, P., 1985. *Journey into the world of Hearing*
- Gutfreund, Y., 2012. Stimulus-specific adaptation, habituation and change detection in the gaze control system. *Biological Cybernetics*, 106(11-12), pp.657–68.
- Hara, K. & Harris, R.A., 2002. The anesthetic mechanism of urethane: the effects on neurotransmitter-gated ion channels. *Anesthesia and Analgesia*, 94(2), pp.313–8
- Hawkins, H .L. & Presson J.C., Auditory information processing, in K.R. Boff, L. Kaufman, J.P. Thomas (Eds.), *Handbook of Perception and Human Performance*, Wiley, New York, 1986, p. 26.1-64.
- Herbert, H., Aschoff, A. & Ostwald, J., 1991. Topography of projections from the auditory cortex to the inferior colliculus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 304(1), pp.103–22.
- Hernández, O., Espinosa, N. Pérez-González, D. & Malmierca, M.S., 2005. The inferior colliculus of the rat: a quantitative analysis of monaural frequency response areas. *The Journal of Neuroscience*, 132(1), pp.203–17.
- Hershenhoren, I. Taaseh, N., Antunes, F.M. & Nelken, I., 2014. Intracellular correlates of stimulus-specific adaptation. *The Journal of neuroscience*, 34(9), pp.3303–19.

-
- Hillyard, S.A. & Picton, T.W. (1987). Electrophysiology of cognition. *Handbook of Physiology, part 2*, 519-584.
- Horváth, J. Müller, D., Weise, A. & Schröge, E. 2010. Omission mismatch negativity builds up late. *Neuroreport*, 21(7), pp.537–41.
- Horváth, J. Czigler, I., Sussman, E. & Winkler I., 2001. Simultaneously active pre-attentive representations of local and global rules for sound sequences in the human brain. *Brain research. Cognitive Brain Research*, 12(1), pp.131–44.
- Jääskeläinen, I.P., Ahveninen, J., Bonmassar, G., Dale, A.M., Ilmoniemi, R.J., Levänen, S., Lin, F., May, P., Melcher, J., Stufflebeam, S., Tiitinen, H. & Belliveau, J.W., 2004. Human posterior auditory cortex gates novel sounds to consciousness. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(17), pp.6809–14.
- Loftus, W.C., Malmierca, M. S., Bishop, D. C. & Oliver, D. L., 2008. The cytoarchitecture of the inferior colliculus revisited: a common organization of the lateral cortex in rat and cat. *The Journal of Neuroscience*, 154(1), pp.196–205.
- Lomber, S.G., Payne, B.R. & Horel, J.A., 1999. The cryoloop: an adaptable reversible cooling deactivation method for behavioral or electrophysiological assessment of neural function. *The Journal of Neuroscience Methods*, 86(2), pp.179–194.
- Malmierca, M.S., Blackstad, T. W. , Osen, K. K., Karagülle, T. and Molowny R. L., 2008. A discontinuous tonotopic organization in the inferior colliculus of the rat. *The Journal of Neuroscience*, 28(18), pp.4767–76.
- Malmierca, M.S., Hernández, O., Antunes F.M. & Rees, A., 2009. Divergent and point-to-point connections in the commissural pathway between the inferior colliculi. *The Journal of Comparative Neurology*, 514(3), pp.226–39.
- Malmierca, M.S., Blackstad, T.W., Osen K.K., Karagülle, T. & Molowny R.L., 1993. The central nucleus of the inferior colliculus in rat: a Golgi and computer reconstruction study of neuronal and laminar structure. *The Journal of Comparative Neurology*, 333(1), pp.1–27.
- Malmierca, M.S. Hernández, O., Falconi, A., Lopez-Poveda, E.A., Merchán, M. & Rees, A., 2003. The commissure of the inferior colliculus shapes frequency response areas in rat: an in vivo study using reversible blockade with

- microinjection of kynurenic acid. *Experimental Brain Research*, 153(4), pp.522–9.
- Malmierca, M.S., 2003. The structure and physiology of the rat auditory system: an overview. *International Review of Neurobiology*, 56, pp.147–211.
- Malmierca, M.S., 2015. Auditory system. *Paxinos G editor. The rat nervous system, 4th ed. Amsterdam: Academic Press*
- Malmierca, M.S., Hernández, O. & Rees, A., 2005. Intercollicular commissural projections modulate neuronal responses in the inferior colliculus. *The European Journal of Neuroscience*, 21(10), pp.2701–10.
- Malmierca, M.S. & Young, E.D., 2014. Inferior colliculus microcircuits. *Frontiers in Neural Circuits*, 8, p.113.
- May, P.J.C. & Tiitinen, H., 2010. Mismatch negativity (MMN), the deviance-elicited auditory deflection, explained. *Psychophysiology*, 47(1), pp.66–122.
- Merrill, E.G. & Ainsworth, A., 1972. Glass-coated platinum-plated tungsten microelectrodes. *Medical & Biological Engineering*, 10(5), pp.662–72.
- Morest, D.K. & Oliver, D.L., 1984. The neuronal architecture of the inferior colliculus in the cat: defining the functional anatomy of the auditory midbrain. *The Journal of Comparative Neurology*, 222(2), pp.209–36.
- Movshon, J.A. & Lennie, P., 1979. Pattern-selective adaptation in visual cortical neurones. *Nature*, 278(5707), pp.850–2.
- Mumford, D., 1992. On the computational architecture of the neocortex. II. The role of cortico-cortical loops. *Biological Cybernetics*, 66(3), pp.241–51.
- Näätänen, R., Paavilainen, P., Alho, K., Reinikainen, K. & Sams M., 1989. Do event-related potentials reveal the mechanism of the auditory sensory memory in the human brain? *Neuroscience Letters*, 98(2), pp.217–221.
- Näätänen R. The role of attention in auditory information processing as revealed by event-related potentials and other brain measures of cognitive function, Behavior. *Brain Science*. 13 (1990) 201–208.
- Näätänen R. Attention and brain function. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum; 1992.

-
- Näätänen, R., Tervaniemi, M., Sussman, E., Paavilainen, P., & Winkler, I., 2001. "Primitive intelligence" in the auditory cortex. *Trends in Neurosciences*, 24(5), pp.283–288.
- Näätänen, R., Paavilainen, P., Rinne, T. & Alho, K., 2007. The mismatch negativity (MMN) in basic research of central auditory processing: a review. *Clinical Neurophysiology*, 18(12), pp.2544–90.
- Näätänen, R., Gaillard, A.W.K. & Mäntysalo, S., 1978. Early selective-attention effect on evoked potential reinterpreted. *Acta Psychologica*, 42(4), pp.313–329.
- Näätänen, R., Paavilainen, P. & Reinikainen, K., 1989. Do event-related potentials to infrequent decrements in duration of auditory stimuli demonstrate a memory trace in man? *Neuroscience Letters*, 107(1-3), pp.347–52.
- Näätänen, R. & Picton, T., 1987. The N1 wave of the human electric and magnetic response to sound: a review and an analysis of the component structure. *Psychophysiology*, 24(4), pp.375–425.
- Nelken, I., 2014. Stimulus-specific adaptation and deviance detection in the auditory system: experiments and models. *Biological Cybernetics*, 108(5), pp.655–63.
- Nelken, I. & Bar-Yosef, O., 2008. Neurons and objects: the case of auditory cortex. *Frontiers in Neuroscience*, 2(1), pp.107–13.
- Nelken, I., Ulanovsky, N., 2007 Change detection, mismatch negativity and stimulus-specific adaptation in animal models. *Journal of Psychophysiology* 21:214–223.
- Nelken, I., Rotman, Y. & Bar Yosef, O., 1999. Responses of auditory-cortex neurons to structural features of natural sounds. *Nature*, 397(6715), pp.154–7.
- Netser, S., Zahar, Y. & Gutfreund, Y., 2011. Stimulus-specific adaptation: can it be a neural correlate of behavioral habituation? *The Journal of Neuroscience*, 31(49), pp.17811–20.
- Nordby, H., Roth, W.T. & Pfefferbaum, A., 1988. Event-related potentials to time-deviant and pitch-deviant tones. *Psychophysiology*, 25(3), pp.249–61.

-
- Nuding, S.C., Chen, G.D. & Sinex, D.G., 1999. Monaural response properties of single neurons in the chinchilla inferior colliculus. *Hearing Research*, 131(1-2), pp.89–106.
- Oliver D.L. & Huerta M.F. Inferior and superior colliculus. In: Webster DB, Popper AN, Fay RR, editors. *The Mammalian Auditory Pathway: Neuroanatomy*. Springer; New York: 1992. pp. 168–221
- Paavilainen, P., Karlsson, M.L., Reinikainen, K. & Näätänen, R., 1989. Mismatch negativity to change in spatial location of an auditory stimulus. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 73(2), pp.129–41.
- Paavilainen, P., 2013. The mismatch-negativity (MMN) component of the auditory event-related potential to violations of abstract regularities: a review. *International Journal of Psychophysiology*, 88(2), pp.109–23.
- Palombi, P.S. & Caspary, D.M., 1996. GABA inputs control discharge rate primarily within frequency receptive fields of inferior colliculus neurons. *Journal of Neurophysiology*, 75(6), pp.2211–2219.
- Paxinos, G. & Watson, C., 2005. The rat brain in stereotaxic coordinates. *Elsevier Academic Press*.
- Peña, M., Bonatti, L.L., Nespore, M. & Mehler J., 2002. Signal-driven computations in speech processing. *Science (New York, N.Y.)*, 298(5593), pp.604–7.
- Pérez-González, D., Malmierca, M.S. & Covey, E., 2005. Novelty detector neurons in the mammalian auditory midbrain. *The European Journal of Neuroscience*, 22(11), pp.2879–85.
- Picton, T.W., Alain, C., Otten, L., Ritter, W. & Achim A., Mismatch negativity: different water in the same river. *Audiology & Neuro-otology*, 5(3-4), pp.111–39.
- Picton, T.W., Woods, D.L. & Proulx, G.B., 1978a. Human auditory sustained potentials. I. The nature of the response. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 45(2), pp.186–97.
- Picton, T.W., Woods, D.L. & Proulx, G.B., 1978b. Human auditory sustained potentials. II. Stimulus relationships. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 45(2), pp.198–210.

-
- Picton, T.W. & Hillyard, S.A. (1988). Endogenous event-related potentials. En T.W: Picton (Ed.). *Handbook of Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, pp. 361-425.
- Pollak, G.D., R. Burger, M., Park, T.J., Klug, A, & Bauer, E.E., 2002. Roles of inhibition for transforming binaural properties in the brainstem auditory system. *Hearing Research*, 168(1-2), pp.60–78.
- Polley, D.B., Read, H.L., Storace, D.A, & Merzenich, M.M., 2007. Multiparametric auditory receptive field organization across five cortical fields in the albino rat. *Journal of Neurophysiology*, 97(5), pp.3621–38.
- Raij, T., McEvoy, L. , Mäkelä, j. & Hari, R., 1997. Human auditory cortex is activated by omissions of auditory stimuli. *Brain Research*, 745(1-2), pp.134–143.
- Rao, R.P. & Ballard, D.H., 1999. Predictive coding in the visual cortex: a functional interpretation of some extra-classical receptive-field effects. *Nature Neuroscience*, 2(1), pp.79–87.
- Reches, A. & Gutfreund, Y., 2008. Stimulus-specific adaptations in the gaze control system of the barn owl. *The Journal of Neuroscience*, 28(6), pp.1523–33.
- Rees, A., Sarbaz, A., Malmierca, M. S. & Le Beau F. E., 1997. Regularity of firing of neurons in the inferior colliculus. *Journal of Neurophysiology*, 77(6), pp.2945–65.
- Ruhnau, P., Herrmann, B. & Schröger, E., 2012. Finding the right control: the mismatch negativity under investigation. *Clinical Neurophysiology*, 123(3), pp.507–12.
- Saarinen, J., Paavilainen, P., Schöger, E., Tervaniemi, M. & Näätänen, R., 1992. Representation of abstract attributes of auditory stimuli in the human brain. *Neuroreport*, 3(12), pp.1149–51.
- Saffran, J.R., Aslin, R.N. & Newport, E.L., 1996. Statistical learning by 8-month-old infants. *Science (New York, N.Y.)*, 274(5294), pp.1926–8.
- Saldaña, E., Feliciano, M. & Mugnaini, E., 1996. Distribution of descending projections from primary auditory neocortex to inferior colliculus mimics the topography of intracollicular projections. *The Journal of Comparative Neurology*, 371(1), pp.15–40.

-
- Sams, M., Paavilainen, P., Alho, K., & Näätänen, R., 1985. Auditory frequency discrimination and event-related potentials. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 62(6), pp.437–48.
- Sams, M., Aulanko, R., Aaltonen, O. & Näätänen, R., 1990. Event-related potentials to infrequent changes in synthesized phonetic stimuli. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 2(4), pp.344–57.
- Sanmiguel, I., Saupe, K. & Schröger, E., I know what is missing here: electrophysiological prediction error signals elicited by omissions of predicted “what” but not “when”. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2013 Jan;7:407.
- SanMiguel, I., Widmann, A., Bendixen, A., Trujillo-Barreto, N., & Schröger, E., Hearing silences: human auditory processing relies on preactivation of sound-specific brain activity patterns. *Journal of Neuroscience*, 2013 15 May 33(20), pp.8633–8639.
- Sanchez-Vives, M. V, Nowak, L.G. & McCormick, D.A., 2000. Membrane mechanisms underlying contrast adaptation in cat area 17 in vivo. *The Journal of Neuroscience*, 20(11), pp.4267–85.
- Scherg, M., Vajsar, J. & Picton, T.W., 1989. A source analysis of the late human auditory evoked potentials. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 1(4), pp.336–55.
- Schröger, E., Näätänen, R. & Paavilainen, P., 1992. Event-related potentials reveal how non-attended complex sound patterns are represented by the human brain. *Neuroscience Letters*, 146(2), pp.183–6.
- Schröger, E. & Wolff, C., 1996. Mismatch response of the human brain to changes in sound location. *Neuroreport*, 7(18), pp.3005–8.
- Serra, J.M., Escera, C., Sánchez-Turet, M., Sánchez-Sastre, J. & Grau, C., 1996. The H1-receptor antagonist chlorpheniramine decreases the ending phase of the mismatch negativity of the human auditory event-related potentials. *Neuroscience Letters*, 203(2), pp.77–80.
- Shinozaki, N. Yabe H, Sato Y, Hiruma T, Sutoh T, Matsuoka T, Kaneko S., 2003. Spectrotemporal window of integration of auditory information in the human brain. *Cognitive Brain Research*, 17(3), pp.563–571.

-
- Stüttgen, M.C. & Schwarz, C., 2010. Integration of vibrotactile signals for whisker-related perception in rats is governed by short time constants: comparison of neurometric and psychometric detection performance. *The Journal of Neuroscience*, 30(6), pp.2060–9.
- Syka, J., Popelár, J., Kvasnák, E. & Astl, J. 2000. Response properties of neurons in the central nucleus and external and dorsal cortices of the inferior colliculus in guinea pig. *Experimental Brain Research*, 133(2), pp.254–66.
- Taaseh, N., Yaron, A. & Nelken, I., 2011. Stimulus-specific adaptation and deviance detection in the rat auditory cortex. *PLoS One*, 6(8), p.e23369.
- Tanner, W.P. & SWETS, J.A., 1954. A decision-making theory of visual detection. *Psychological Review*, 61(6), pp.401–9.
- Thomas, J.M., Morse, C. Kishline, L., O'Brien-Lambert, A. Simonton, A., Miller, K.E. & Covey, E., 2012. Stimulus-specific adaptation in specialized neurons in the inferior colliculus of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *Hearing Research*, 291(1-2), pp.34–40.
- Toro, J.M., Trobalon, J.B. & Sebastián-Gallés, N., 2005. Effects of backward speech and speaker variability in language discrimination by rats. *Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes*, 31(1), pp.95–100.
- Ulanovsky, N., Las, L. & Nelken, I., 2004. Multiple time scales of adaptation in auditory cortex neurons. *The Journal of Neuroscience*, 24(46), pp.10440–53.
- Ulanovsky, N., Las, L. & Nelken, I., 2003. Processing of low-probability sounds by cortical neurons. *Nature Neuroscience*, 6(4), pp.391–8.
- Versnel, H., Zwiers, M.P. & van Opstal, A.J., 2009. Spectrotemporal response properties of inferior colliculus neurons in alert monkey. *The Journal of Neuroscience*, 29(31), pp.9725–39.
- Westerman, L.A. & Smith, R.L., 1984. Rapid and short-term adaptation in auditory nerve responses. *Hearing Research*, 15(3), pp.249–60.
- Winkler, I., Denham, S.L. & Nelken, I., 2009. Modeling the auditory scene: predictive regularity representations and perceptual objects. *Trends in Cognitive Sciences*, 13(12), pp.532–40.

-
- Winkler, I., Karmos, G. & Näätänen, R., 1996. Adaptive modeling of the unattended acoustic environment reflected in the mismatch negativity event-related potential. *Brain Research*, 742(1-2), pp.239–252.
- Yabe, H., Tervaniemi, M., Sinkkonen, J. Huottilainen, M., Ilmoniemi, R.J. & Näätänen, R., 1998. Temporal window of integration of auditory information in the human brain. *Psychophysiology*, 35(5), pp.615–9.
- Yabe, H. Tervaniemi, M., Reinikainen, K. & Näätänen R., 1997. Temporal window of integration revealed by MMN to sound omission. *Neuroreport*, 8(8), pp.1971–4.
- Yaron, A., Hershenhoren, I. & Nelken, I., 2012. Sensitivity to complex statistical regularities in rat auditory cortex. *Neuron*, 76(3), pp.603–15.
- Yuille, A. & Kersten, D., 2006. Vision as Bayesian inference: analysis by synthesis? *Trends in Cognitive Sciences*, 10(7), pp.301–8.
- Zhao, L., Liu, Y., Shen, L., Feng, L., & Hong, B., 2011. Stimulus-specific adaptation and its dynamics in the inferior colliculus of rat. *The Journal of Neuroscience*, 181, pp.163–74.