

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA



FACULTAD DE PSICOLOGÍA



Trabajo Fin de Grado en Psicología

Convocatoria Julio 2017

**ESTUDIO SOBRE LA REHABILITACIÓN VISUAL DE RATAS AMBLIOPES
MEDIANTE ESTIMULACIÓN TRANSCRANEAL CON CORRIENTE DIRECTA**

**STUDY OF VISUAL REHABILITATION IN AMBLIOPES RATS BY
TRANSCRANEAL DIRECT-CURRENT STIMULATION**

Autor: Salvador Ruiz López

Tutor: Fernando Sánchez Santed

“Paciencia, que es la madre de la ciencia”

AGRADECIMIENTOS

Al entrar en el grado de psicología jamás hubiera pensado en mi andadura por el mundo de la investigación. De hecho, no fue hasta casi el tercer curso cuando decidí junto con un amigo y compañero (Javi) iniciar el camino de la investigación. Cuando Fernando Sánchez dió la oportunidad de poder colaborar en una investigación, no nos lo pensamos ni un segundo y nada más terminar la clase fuimos a hablar contigo. Por esto mismo, mi primer agradecimiento va para ti, Fernando, por darnos la oportunidad de emprender este sacrificado pero satisfactorio camino de la investigación tanto en humanos como posteriormente en el laboratorio de Psicobiología. También, por el apoyo mostrado durante la realización de las prácticas, y, sobre todo, por la tutorización de este Trabajo Fin de Estudios, un trabajo donde finaliza una etapa importante para nosotros, pero que no es más, que el inicio de un nuevo camino.

Agradecer a Sergio Castaño-Castaño por enseñarme a como desenvolverse en la vida, eres un ejemplo a seguir y espero que sigas así con esa ambición de revolucionar el mundo de la ciencia.

A Cristian Pérez por sus maravillosos esquemas explicativos que como no lo vayas recordando cada minuto se convierten en un cuadro imitando a los cuadros de Pablo Picasso.

A todos los compañeros de laboratorio: Miguel, Santi, Ana M., Ana K., Mata, Elena, Ángeles, Elisa. Y a todos los practicums que hemos estado este año 2017 en el laboratorio de Psicobiología. Vosotros habéis hecho que sepa apreciar la investigación de psicología, pero, sobre todo, me habéis ayudado a que el practicum no me lleve de cabeza al suelo...oh, espera un momento...

Y, por último, pero no por ello menos importante, a todoxs mis amigoxs que he conocido durante estos cuatro años: Alicia, Javi, Ornella, Juanfran...este párrafo va para vosotros.



Resumen: La ambliopía es una patología del neurodesarrollo que afecta a la función visual debido a la alteración de la corteza visual primaria (V_1). En la ambliopía se produce un desajuste entre los procesos inhibitorios y excitatorios mediados por la acción del neurotransmisor GABA. La ambliopía viene caracterizada por déficits en la agudeza visual, sensibilidad al contraste, percepción del movimiento y percepción de la profundidad entre otros. Este último, percepción de la profundidad es la característica central de nuestra investigación. Hasta hace poco tiempo, la ambliopía no tenía tratamiento en edad adulta. Nuestra investigación trata sobre el efecto que ejerce la estimulación transcraneal de corriente directa en esta patología en ratas Long Evans adultas, en concreto, determinar el número de sesiones necesarias para que se produzca una mejora en la percepción de la profundidad en las ratas ambliopes adultas evaluadas mediante una adaptación del test del barranco visual de Booher y Walk. En esta investigación hemos podido determinar que el número de sesiones suficientes para provocar una mejora significativa en la ambliopía es de cinco sesiones.

Palabras Clave: Ambliopía, Estimulación, tDCS, Rehabilitación, Función visual, ratas Long Evans

Abstract: Amblyopia is a neurodevelopmental pathology that affects visual function due to alteration of the primary visual cortex (V_1). In amblyopia there is a mismatch between the inhibitory and excitatory processes mediated by the action of the neurotransmitter GABA. Amblyopia is characterized by deficits in visual acuity, contrast sensitivity, perception of movement and perception of depth among others. The latter, perception of depth, is the central feature of our research. Until recently, amblyopia had no treatment in adulthood. Our research deals with the effect of transcranial direct current stimulation in this disease in adult Long Evans rats, in particular, to determine the number of sessions necessary for an improvement in the perception of depth in adult ambliopes rats evaluated by an adaptation of the Booher and Walk Visual Cliff. In this research we have been able to determine that the number of sessions sufficient to cause a significant improvement in amblyopia is five sessions.

Keywords: Amblyopie, Stimulation, tDCS, Rehabilitation, Visual Function, Long-Evans rats.



ABREVIATURAS

ANOVA: Análisis de la Varianza

AP: Anterior-Posterior

cm: Centímetros

cm²: Centímetros cuadrados

CS: Colicuo Superior

g: Gramos

GABA: Acido Gamma-Aminobutírico

ID: Índice de discriminación

LD: Lateral-Dorsal

mg: miligramos

ml: mililitros

mm: milímetros

NGLD: Núcleo geniculado lateral dorsal

°C: Grados centígrados

SPSS: Software de cálculo estadístico

tDCS: Estimulación transcraneal de corriente directa

V1: Corteza visual primaria

V2: Corteza visual secundaria



ÍNDICE

1. Introducción	8
1.1 Sistema visual	8
1.2 Ambliopía	9
1.3 Estimulación transcraneal con corriente directa	11
2. Método	13
2.1 Animales	13
2.2 Procedimiento	13
2.2.1 Grupos experimentales	13
2.2.2 Modelo de ambliopía	14
2.2.3 Implante electrodo	15
2.2.4 Aplicación tDCS	15
2.2.5 Tarea del barranco	16
2.3 Estadística	16
3. Resultados	17
4. Discusión	21
5. Conclusiones	23
6. Bibliografía	24



1. Introducción

1.1 Sistema visual

La organización del sistema visual de las ratas es bastante similar que al del resto de mamíferos. La peculiaridad del sistema visual de las ratas es que los axones procedentes de la retina que dan lugar al nervio óptico se proyectan ipsilateralmente en un 5%, mientras que, el resto de axones (95%) proyectan contralateralmente (Polyak, 1957). Este hecho anatómico es crucial para la investigación sobre los efectos de las lesiones unilaterales de la retina, debido a que el lado contralateral a la lesión queda desconectado, mientras que el lado ipsilateral se mantiene intacto (Lund, 1965).

Las principales estructuras que forman el sistema visual son: la retina, el núcleo geniculado lateral dorsal, el colículo superior y el córtex visual primario. Estas estructuras se organizan en dos rutas de transmisión de la información visual. La primera, la ruta retinogeniculada que proyecta la información desde la retina a la capa IV de la corteza visual primaria (V1) pasando por el núcleo geniculado lateral dorsal (GLD). La segunda ruta, la ruta retinocolicular se dirige desde la retina hasta el colículo superior (CS) (Harvey & Worthington, 1990).

El núcleo geniculado lateral dorsal (GLD) es el considerado relevo talámico de la ruta retinogeniculada por lo que se encarga de recibir los estímulos procedentes de la retina y enviarlos a la corteza visual. Aun así, el GLD cumple dos funciones características. Una, el relevo de información desde la retina hasta la corteza, para ello, el GLD está dividido en seis capas donde las capas II, III y V reciben información de la mitad lateral de la retina, mientras que, las capas I, IV y VI reciben la información de la cara interna de la retina (Jones, 1985; Sanderson et al., 1991). La otra función es la de actuar como filtro de información para la corteza visual, es decir, controla la cantidad de señales que entra en ella (Coleman & Mitrofanis, 1996).



La corteza visual se encuentra dividida en dos partes: la corteza visual primaria (V1) y la corteza visual secundaria (V2). La corteza visual primaria recibe la información del núcleo geniculado lateral dorsal por lo que se ve implicada en la agudeza visual, el procesamiento de información de objetos estativos y en movimiento y en el reconocimiento de patrones (Zilles et al., 1980). Por último, la corteza visual secundaria está organizada en dos partes, la corteza visual secundaria lateral encargada de la discriminación de los patrones visuales, y, la corteza visual secundaria medial encargada de los mecanismos de orientación visual espacial (Zilles et al., 1980).

En las ratas Long Evans la apertura del ojo se realiza en torno al día 14 postnatal, en este momento comienza la reorganización de todas las conexiones del sistema visual, la reorganización se debe a los estímulos visuales procedentes de la experiencia visual. Este fenómeno tiene lugar hasta aproximadamente el día 28 postnatal donde el sistema visual empieza a estabilizarse (Cancedda et al., 2004). A partir de este momento se considera que se ha cerrado el periodo crítico del sistema visual. Aunque el sistema visual haya madurado y se haya dado por finalizado el periodo crítico se sigue manteniendo un cierto grado de plasticidad neuronal en la edad adulta de la rata (Fu & Zou, 2011).

1.2 Ambliopía

La ambliopía es una patología del neurodesarrollo temprano que afecta a la función visual debido a la alteración de la corteza visual primaria (V1) (Holmes & Clarke, 2006) y áreas extraestriadas (Kiorpes & Mckee, 1999). En la ambliopía se produce un desajuste entre los procesos inhibitorios y excitatorios liderados por factores de supresión interocular mediados por funciones del Ácido Gamma-Aminobutírico (GABA) (Farivar et al., 2011).

Las principales características de la ambliopía son un déficit en la agudeza visual y sensibilidad al contraste (Bradley & Freeman, 1981), un desajuste en la percepción del movimiento (Ho & Giaschi, 2009) distorsiones espaciales (Barret et al., 2003), un déficit en la percepción de la profundidad estereoscópica (Holmes & Clarke, 2006) y una pobre visión binocular (Mansouri, Thompson & Hess, 2008).



Según Mckee (2003), la ambliopía se caracteriza por distintos déficits visuales que afectan tanto a la visión monocular como a la visión binocular. Anteriormente se tenía la idea de que los sujetos ambliopes eran anatómicamente monoculares y que era imposible la realización de procesos binoculares. En cambio, investigaciones más actuales han demostrado la existencia de procesos binoculares en sujetos ambliopes, lo cual, significa que se ha producido una supresión de dichos procesos en condiciones de binocularidad (Ding & Levi, 2014).

La supresión interocular refleja la influencia inhibitoria de los inputs visuales de un ojo sobre el otro ojo (Hess, Thompson & Baker, 2014). Esto proporciona dos imágenes diferentes y no coincidentes al córtex visual que es obligado a seleccionar un canal de entrada visual desechando la información del otro ojo (Panel de la Academia Americana de Oftalmología Pediátrica y Estrabismo, 2007). Por estas razones, los sujetos ambliopes son estructuralmente binoculares, pero funcionalmente monoculares (Ding & Levi, 2014; Hess et al., 2014).

Como hemos señalado en el inicio de este apartado, parece ser que la actividad inhibitoria en el córtex visual está mediada principalmente por la actuación del GABA. (Hess, Thompson & Baker, 2014). Investigadores han demostrado que una administración aguda de antagonistas del GABA como la Bibiculina y el Naloxone pueden restaurar la función visual en las neuronas del sistema visual de los mamíferos que anteriormente eran monoculares (Duffy et al., 1985).

Encontramos dos causas básicas en la aparición de la ambliopía, una de ella de origen orgánico y la otra de origen funcional. Para Puestas (1998) las causas orgánicas son aquellas que provocan una disminución de la agudeza visual debido a alteraciones anatómicas. Sin embargo, las segundas, también se presenta una disminución de la agudeza visual, pero en este caso no hay ninguna alteración anatómica. La intensidad de la ambliopía funcional depende de una serie de factores descritos por Puestas en 1998: la edad de inicio, la gravedad de la alteración de la imagen retiniana, la duración de la alteración de la visión y la edad del paciente cuando se aplica un tratamiento.



La ambliopía funcional se divide en tres tipos:

- Ambliopía por privación, se origina debido a la obstrucción del eje visual.
- Ambliopía estrábica: producida por un desalineamiento del eje de uno o ambos ojos, lo que provoca la supresión de la imagen del ojo desviado.
- Ambliopía refractiva, debida a la falta de enfoque por un defecto óptico unilateral o bilareral. A su vez de subdivide en:
 - 1) Ambliopía isométrica o bilateral donde el defecto de refracción es similar en ambos ojos, pero es lo suficientemente elevado como para provocar una pérdida del foco de ambas imágenes.
 - 2) Ambliopía anisométrica, es la causada por la diferencia de refracción entre ambos ojos.

A lo largo de la historia de la ambliopía se han estudiado diversos tratamientos como la corrección óptica, la oclusión, la penalización, la cirugía y la terapia visual entre otros. En nuestra investigación vamos a tratar la ambliopía mediante la estimulación transcraneal con corriente directa y determinar los efectos que origina en esta patología.

1.3 Estimulación transcraneal con corriente directa (tDCS)

La estimulación actúa modulando la plasticidad cerebral, por lo que su uso para la recuperación funcional de circuitos neuronales puede ser efectiva en cualquier momento del desarrollo (Das et al., 2016). Por esta razón, la estimulación transcraneal se ha convertido en una técnica novedosa y eficaz para el desarrollo de nuevas perspectivas diagnósticas y terapéuticas de las alteraciones cerebrales (Johnston, 2009)



La aplicación de tDCS en una región determinada del cerebro produce la modulación neuronal tanto en la región determinada como en sus estructuras más profundas (Li et al., 2015).

Según la polaridad de la estimulación se puede dividir en estimulación anódica y estimulación catódica. La estimulación anódica favorece la despolarización de membrana en reposo, aumentando la excitabilidad neuronal permitiendo así una activación más rápida de las células (Bikson et al., 2010). Sin embargo, la estimulación catódica hiperpolariza la membrana de la célula en reposo, disminuyendo así la excitabilidad de la neurona (Fernandes et al., 2012) En cuanto a los electrodos, el electrodo activo es el que produce la estimulación cortical, mientras que el electrodo inactivo se llama electrodo de referencia. Según Bikson (2010) afirma que es mejor tener un pequeño electrodo activo y un electrodo de referencia de mayor tamaño.

La investigación de Stagg et al., (2009) demostró que los efectos excitatorios de la tDCS anódica está provocado por una reducción en la inhibición GABAérgica, mientras que, los efectos inhibidores de la tDCS catódica están mediados por la reducción de la transmisión glutamatérgica excitatoria.

Sobre la corteza visual (V1) la estimulación anódica se ha demostrado que disminuye los umbrales de fosfeno que explica una mejora de la excitabilidad cortical. Por el contrario, la tDCS catódica aumenta el umbral de fosfeno (Antal et al., 2003). Además, la aplicación de tDCS anódico en V1 aumentó la sensibilidad, la sensibilidad de detección y el contraste (Kraft et al., 2010).

Nuestra investigación trata de demostrar los efectos terapéuticos de la tDCS en un modelo de ambliopía, para ello, se realizaron ocho sesiones de tDCS y se evaluaron conductualmente en distintos momentos temporales para determinar la eficacia de la tDCS como tratamiento de la ambliopía. Concretamente se ha diseñado la investigación de tal forma para determinar a partir de qué sesión de tDCS se empiezan a observar resultados de mejora. Se diseñó de esta manera ya que anteriormente, las investigaciones realizadas por Castaño (2017) han demostrado el efecto de la tDCS en la ambliopía mediante un análisis pre-post. Por esta razón, esta investigación trata de averiguar si es necesario el tratamiento de ocho sesiones o si hace efecto con menos sesiones, y así poder hacerlo más eficiente.

2. Método

2.1 Animales

El experimento contó con 16 ratas macho Long Evans de origen propio, es decir, nacidas en los animalarios del laboratorio de Psicobiología de la Universidad de Almería. El animalario y las habitaciones experimentales estaban ajustadas a una temperatura continua durante toda la investigación (22° C) y el ciclo luz-oscuridad, con un periodo de luz de 20:00 horas a 08:00 horas. Tanto el animalario como la sala de experimentación tienen ventilación continua e independiente. A los 21 día de su nacimiento, las ratas fueron divididas en cajas hogar, cada una con cuatro ratas. Todas las ratas estaban ad libitum de comida y agua. Todos los procedimientos empleados en la investigación se realizaron de acuerdo con la legislación vigente para la protección de los animales con el fin de garantizar el máximo confort y mínimo malestar a los animales (Real Decreto 53/2013, Directiva Europea 2010/63/EU). Todos los protocolos fueron previamente revisados y aprobados por el Comité de Bioética de la Universidad de Almería. Esta investigación está asociada al proyecto de investigación PS09-01163.

2.2 Procedimiento

2.2.1 Grupos experimentales

Los animales se dividieron en cuatro grupos de cuatro sujetos cada uno (Tabla 1): 1) ratas control sin tDCS (CONTROL); 2) ratas control con tDCS (CONTROL- tDCS); 3) ratas ambliopes con tDCS (AMBLIOPE- TDCS); ratas ambliopes sin tDCS (AMBLIOPE).

Todos los animales fueron evaluados conductualmente mediante la tarea del barranco antes (evaluación 1), durante (evaluación 2 y 3) y después (evaluación 4) de la aplicación de tDCS. La evaluación 2 corresponde al primer día de aplicación de tDCS; la evaluación 3 al quinto día; y la evaluación cuatro al último día de tDCS, la sesión ocho.

Grupo	Evaluación 1 (PRETRATAMIENTO)	Evaluación 2 (Día 1)	Evaluación 3 (Día 5)	Evaluación 4 (Día 8)
Control	No estimulada	No estimulada	No estimulada	No estimulada
Control-tDCS	No estimulada	Estimulada	Estimulada	Estimulada
Ambliope	No estimulada	No estimulada	No estimulada	No estimulada
Ambliope-tDCS	No estimulada	Estimulada	Estimulada	Estimulada

Tabla 1. Distribución de los grupos experimentales y procedimiento de evaluación

2.2.2 Modelo de ambliopía

El modelo ambliope se realizó mediante la sutura palpebral de un ojo al duodécimo día de su nacimiento. Para ello, los animales fueron anestesiados intramuscularmente con una solución de Xilacina al 2% y Ketamina 100 mg/ml. Una vez anestesiadas, se procedía a la sutura del párpado con hilo de seda y la aplicación de clara de huevo como pegamento tisular con el fin de que el párpado quedara cerrado completamente. Las ratas control también fueron anestesiadas. Tras la sutura, las ratas fueron devueltas a su jaula hogar con su madre hasta el día 21 postnatal en el cual fueron organizadas en jaulas de cuatro ratas. A los cinco meses se procedió a la reapertura del ojo suturado. Entre la reapertura y el inicio de las pruebas conductuales pasó un tiempo de un mes para su correcta recuperación.

2.2.3 Implante electrodo para las sesiones de tDCS

Para la correcta aplicación de la estimulación transcraneal se implantó un electrodo hembra sobre el hueso del cráneo en las ratas experimentales. El electrodo es un tubo metálico de aluminio recubierto en oro de dos milímetros de diámetro. Para la implantación del electrodo las ratas fueron anestesiadas intraperitonealmente con equitesina (0,3 mL/100g de peso corporal). Cuando la anestesia hizo efecto se colocaron en un aparato esterotáxico digital para empezar a operar. Una vez las ratas están sujetas y no se pueden mover, realizamos un corte longitudinal en la piel de la zona de la cabeza dejando visible el cráneo. Utilizamos la posición Bregma como referencia para la implantación del electrodo, que se colocaba siempre al lado contralateral al ojo ambliope y sobre la zona del córtex visual. En concreto, las coordenadas esterotáxicas que se utilizaron fueron AP: -8,00 mm LD: +/- 4,3 mm. El implante fue fijado con cemento óseo Refobacin con Gentamicina, para asegurar que el implante no se despegara del cráneo, raspamos la superficie del cráneo para un mayor agarre del cemento óseo. Al terminar la operación se administró a cada rata una disolución de 0,4 ml de Atropina al 0,5%. Por último, se dejó una semana entre la operación y el inicio de las sesiones de la estimulación.

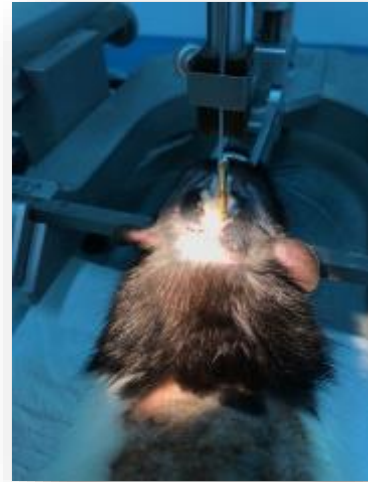


Ilustración 1. Rata durante la operación para el implante del electrodo

2.2.4 Aplicación con estimulación transcraneal con corriente directa

Se aplicaron un total de 8 sesiones de tDCS, una vez al día con una duración de 20 minutos por sesión a una potencia de 200 microamperios en corriente continua. Se utilizó una fuente de estimulación A 355 de la marca WPI (World Precision Instruments). Tanto al principio como al final de las sesiones se aumentaba o disminuía gradualmente la intensidad de corriente durante 20 segundos para evitar cambios bruscos del estímulo. El polo positivo iba conectado al electrodo implantado en el cráneo de los animales, y el polo negativo se situaba en el lomo de la rata que posteriormente habíamos rasurado esa parte, con el objetivo de garantizar una correcta circulación de corriente.

2.2.5 Tarea del Barranco

Las evaluaciones conductuales se realizaron mediante una modificación del barranco visual realizado por Booher y Walk (1968). Consiste en un cajón construido en madera y pintado en negro mate cuyas dimensiones son 84 x 53 x 41 cm. El tamaño total de la arena fue de 84 x 53 cm² que estaba constituida por un cristal de 80 x 50 cm², debajo de este, se colocó un papel de fotografía impreso en damero formado por cuadros blancos y negros de tamaño 3 x 3 cm. Una parte del papel de fotografía estaba justo debajo del cristal, a esta zona se le denominó zona UP, mientras que la otra parte se colocó debajo del barranco a 34 cm por debajo del cristal, zona DOWN

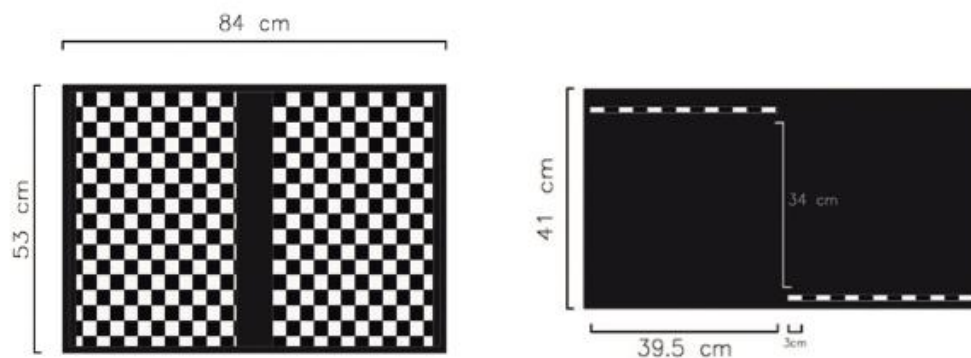


Ilustración 2. Dimensiones de la prueba del barranco visual para evaluar la percepción de la profundidad (Castaño-Castaño, 2017)

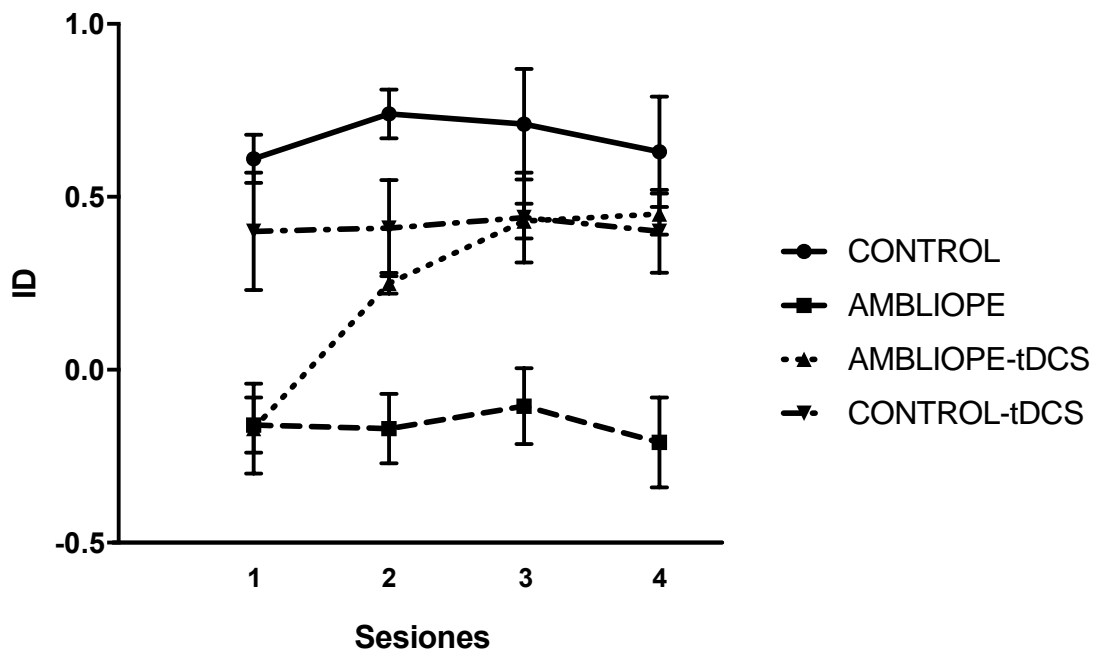
2.3 Estadística

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete SPSS 20.0. Realizamos una ANOVA de Medidas Repetidas para el análisis conductual de las ratas en la prueba del barranco. Para ello, calculamos el índice de discriminación (ID), que consiste en restar el tiempo que pasa en la zona up menos el tiempo en la zona down partido el tiempo total ($t_{up}-t_{down}/t_{total}$). El ID fue utilizado como variable dependiente.

Contamos con dos factores entre grupos: TRATAMIENTO con dos niveles (ambliopes y controles) y el factor ESTIMULACIÓN con otros dos niveles (estimuladas y no estimuladas). Además, analizamos un factor intrasujeto con cuatro niveles: PRETRATAMIENTO, DÍA1, DÍA5 y DÍA8. La interacción entre tratamiento y grupo se analizó mediante el ajuste de Bonferroni para comparaciones pareadas.

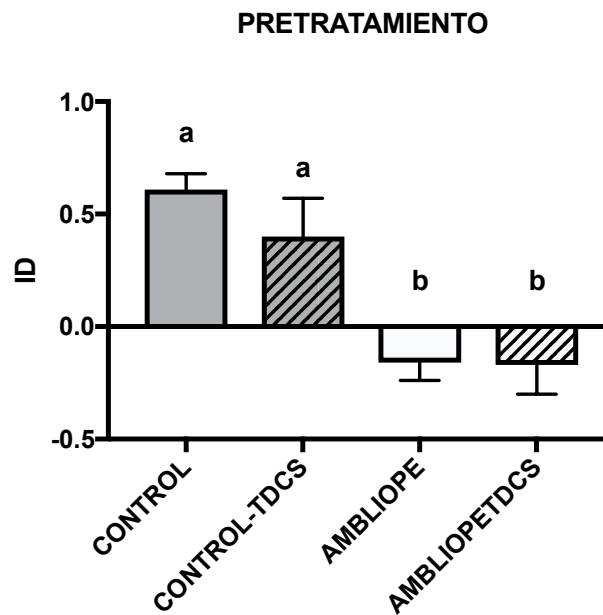
3. Resultados

El TRATAMIENTO mostro un efecto principal significativo $F(3,12)= 13, 597, p <0,005$, con una interacción significativa TRATAMIENTO x GRUPO $F(3,12)=8,212, p <0,05$. Además, encontramos un efecto principal significativo en la interacción TRATAMIEO x GRUPO x ESTIMULACIÓN $F(1,12)= 8, 66 p <0,005$, (véase gráfica 1). A continuación, se procede a la descomposición del análisis, para ello, se realizan ANOVAS para cada día evaluado.



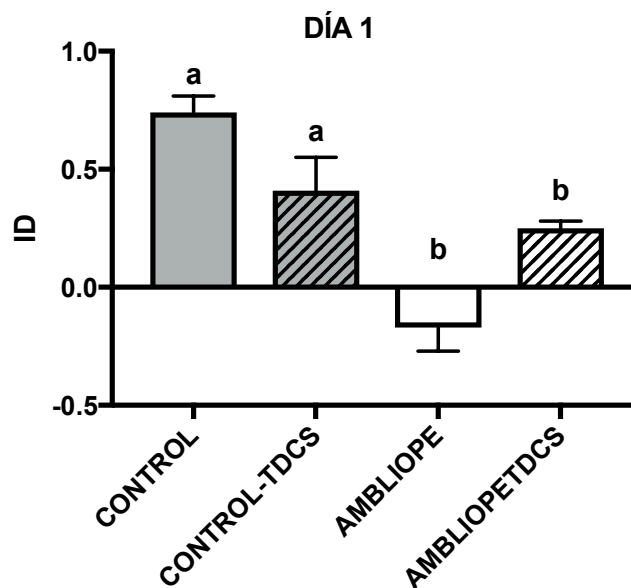
Gráfica 1. Comparación intergrupar e intragrupal

PRETRATAMIENTO: El ANOVA de dos factores TRATAMIENTO x GRUPO que un efecto de GRUPO ($F(3)= 10, 152 p <0,001$), (véase gráfica 2). Solo los animales controles discriminaban la profundidad mientras que los animales ambliopes no la discriminaban.



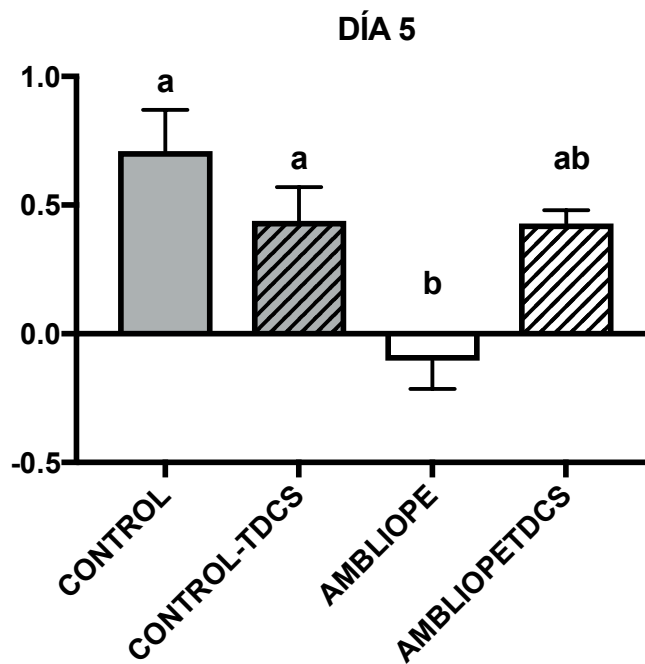
Gráfica 2. Comparación intergrupar en la evaluación 1 (PRETRATAMIENTO) Nota: Los grupos que no muestren una letra en común son estadísticamente significativos $p < 0,05$

Día 1 de estimulación (véase gráfica 3): se encontró, también, efecto de GRUPO, $F(3) = 16,017$ $p < 0,001$. Aunque se observe una mejora en cuanto a la discriminación de la profundidad del grupo AMBLOPETDCS, no es suficiente para estar a un rendimiento similar a las ratas controles.



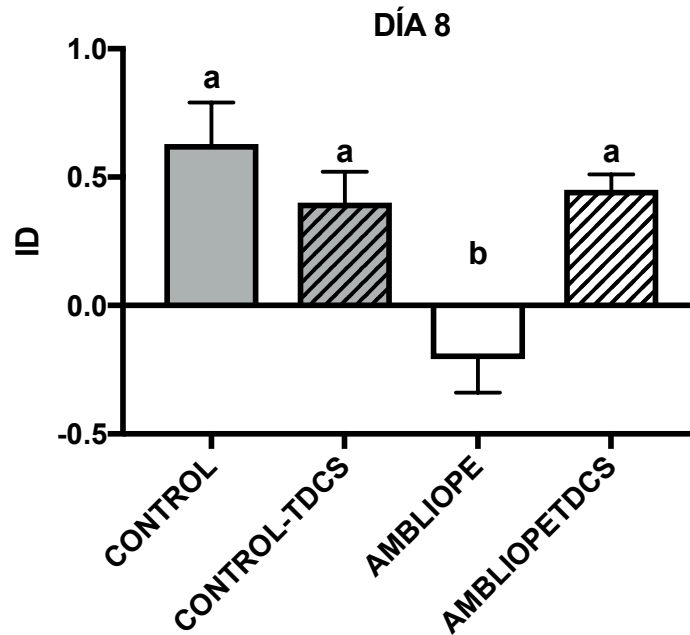
Gráfica 3. Comparación intergrupar tras el primer día de estimulación. Nota: Los grupos que no muestren una letra en común son estadísticamente significativos $p < 0,05$

Día 5 de estimulación (véase gráfica 4): se encontró interacción entre TRATAMIENTO x GRUPO $F(3) = 7,603$ $p < 0,005$. Y, diferencias significativas entre los grupos: CONTROL- AMBLIOPE (diferencia media= 0,82, $p < 0,005$) y CONTROLTDCS- AMBLIOPE (diferencia media= 0,545, $p < 0,05$). No encontrando diferencias significativas entre las comparaciones con el grupo AMBLIOPETDCS, AMBLIOPETDCS y CONTROL ($p = 0,81$) y AMBLIOPETDCS con CONTROLTDCS ($p = 1,000$)



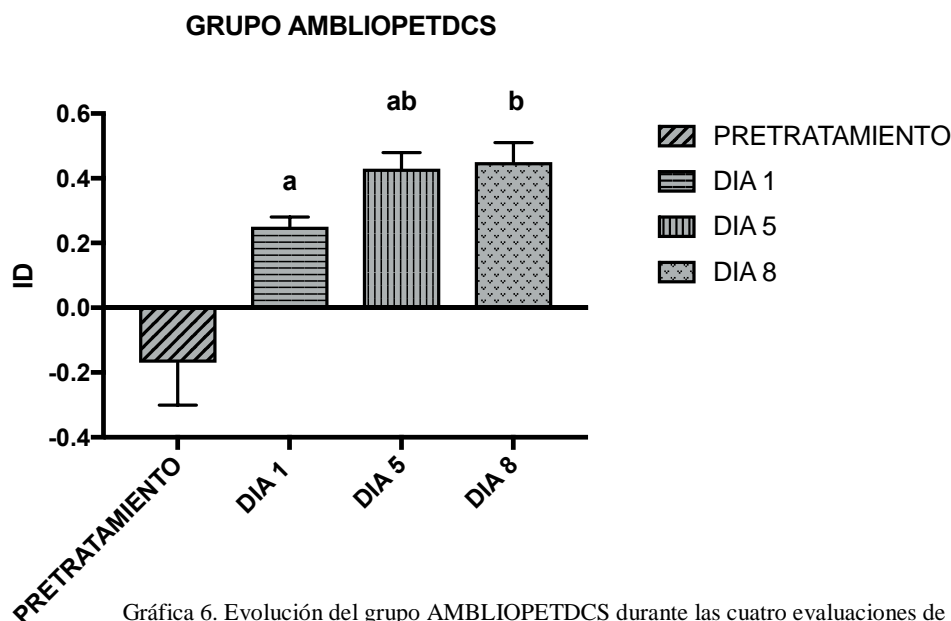
Gráfica 4. Comparación intergrupar tras la 5ª sesión de tDCS. Nota: Los grupos que no muestren una letra en común son estadísticamente significativos $p < 0,05$

Día 8 de estimulación (véase gráfica 5): encontramos interacción TRATAMIENTO x GRUPO, $F(3) = 8,879$ $p < 0,005$, y diferencias significativas entre los grupos: CONTROL – AMBLIOPE (diferencia media= 0,84, $p < 0,005$); AMBLIOPE – CONTROLTDCS (diferencia media= -0,66, $p < 0,005$) y AMBLIOPE-AMBLIOPETDCS (diferencia media= -0,61, $p < 0,005$). Al igual que en el día anterior no se encontraron diferencias significativas entre CONTROL-AMBLIOPETDCS ($p = 1,000$) y CONTROLTDCS-AMBLIOPETDCS ($p = 1,000$).



Gráfica 5. Comparación entre grupos tras la sesión 8 de TDCS. Nota: Los grupos que no muestren una letra en común son estadísticamente significativos $p < 0,05$

Realizando un análisis estadístico intragrupo (véase gráfica 6) solo encontramos diferencias significativas en el grupo AMBLIOPETDCS, con efecto principal $F(1,3) = 67,614$ $p < 0,005$. Estas diferencias se encuentran entre los distintos momentos temporales. PRETRATAMIENTO y DÍA 1 (diferencia media = 0,42, $p < 0,005$); PRETRATAMIENTO y DÍA 5 (diferencia media = 0,60, $p < 0,001$), PRETRATAMIENTO y DÍA 8 (diferencia media = 0,62, $p < 0,005$). Y por último, DÍA 1 y DÍA 8 (diferencia media = -0,62, $p < 0,05$).



Gráfica 6. Evolución del grupo AMBLIOPETDCS durante las cuatro evaluaciones de la investigación. Nota: Los grupos que no muestren una letra en común son



4. Discusión

Los primeros investigadores en demostrar los efectos tras la privación monocular mediante la sutura palpebral en gatos recién nacidos fueron Wiesel y Hubel en 1963. Encontraron que se producía una pérdida de sensibilidad y de respuesta en V1, de esta manera, estos autores proporcionaron el primer modelo de estudio de la plasticidad dependiente de la experiencia durante el periodo crítico del desarrollo postnatal (Wiesel & Hubel, 1963). Estos tipos de modelos permiten estudiar las consecuencias que tiene la ausencia de experiencia visual desde el nacimiento, traducido en un retraso madurativo del córtex visual primario, debido a que las conexiones nerviosas no se encuentran desarrolladas por la ausencia de experiencia visual (Duffy & Mitchell, 2013).

La prueba elegida para evaluar conductualmente la ambliopía es la tarea del barranco que evalúa la tendencia innata de las ratas a evitar las zonas que perciben como más profundas y que ha demostrado ser un método simple para evaluar la percepción de la profundidad de la rata (Booher & Walk, 1968). Por lo tanto, una rata que tenga una correcta función visual podrá percibir la profundidad del barranco, mientras que, una rata con déficits visuales (ambliopía) no percibirá la profundidad. Esto se debe a que la maduración de la percepción de la profundidad estereoscópica se produce durante un periodo corto de tiempo de la vida postnatal (Bauer, 1973). Siguiendo las investigaciones realizadas por Castaño (2017) las ratas ambliopes tras recibir ocho sesiones de tDCS mejoraban significativamente la percepción de profundidad estereoscópica, y, por tanto, una rehabilitación de la ambliopía.

Al igual que en el apartado anterior, vamos a discutir los resultados en función de las sesiones recibidas, y, por último, una discusión general de la investigación.

Los resultados de la evaluación PRETRATAMIENTO nos permite afirmar que ambos grupos ambliopes presentaban un rendimiento significativamente menor inferior que los grupos controles, por lo que podemos afirmar que estábamos ante un modelo adecuado de ratas ambliopes, ya que, no discriminaban las dos zonas de la prueba del barranco presentando un déficit en la percepción de la profundidad estereoscópica.



Tras la primera sesión de tDCS, observamos una mejora de la percepción de la profundidad por parte del grupo AMBLIOPETDCS, aunque sigue siendo estadísticamente significativa inferior en comparación con el rendimiento obtenido por el grupo CONTROL y CONTROLTDCS. Por otro lado, el grupo AMBLIOPE sigue realizando la misma conducta con respecto a la evaluación anterior por lo que no obtenemos fenómeno de habituación a la tarea.

Al finalizar la quinta sesión de tDCS, los cambios producidos por la estimulación se hacen aún más notables. Ya no se obtienen diferencias significativas entre los grupos controles y el grupo ambliope estimulado (AMBLIOPETDCS). Estos datos permiten inferir que la estimulación está originando los cambios neuroplásticos necesarios para la recuperación de la ambliopía. Al igual que en la evaluación anterior, los resultados aportados por los grupos CONTROL y AMBLIOPE no demuestran ningún fenómeno de habituación a la tarea.

En el último día de evaluación conductual, los resultados demuestran la eficacia de la estimulación para el tratamiento de la ambliopía. En esta evaluación, el dato más importante es la significación entre el grupo AMBLIOPE y AMBLIOPETDCS, demostrando así, una mayor discriminación de la tarea en el segundo grupo. Por tanto, podemos determinar que en el grupo AMBLIOPETDCS hemos recuperado la función de la percepción de profundidad estereoscópica en las ratas que al inicio de la investigación no presentaban esta característica.

Para comprobar el efecto de la estimulación transcraneal decidimos realizar un análisis intragrupo en todos los grupos de la investigación. En todos menos en el grupo AMBLIOPETDCS han mantenido una ejecución similar durante las evaluaciones. En el grupo AMBLIOPETDCS ocurre una mejora significativa en la discriminación de las dos arenas en el Test del Barranco, por lo que, podemos afirmar que las ratas ambliopes al ser estimuladas con tDCS recuperan la percepción de la profundidad.



5. Conclusiones

- La privación monocular en la rata Long Evans desde el día 12 hasta el día 60 postnatales provoca un déficit en la función visual, en nuestro caso, en la percepción de la profundidad.
- La estimulación mediante tDCS después de la fase de privación monocular, produce la recuperación de la percepción de la profundidad.
- La prueba del barranco es un instrumento adecuado para evaluar la percepción de profundidad en investigaciones con modelos ambliopes.
- A pesar de la recuperación de la percepción de la profundidad por parte de los animales ambliopes, estos no llegan a la ejecución realizada por los animales controles, siendo la de las ratas ambliopes inferior.
- Para lograr esta mejora en la función visual, la estimulación se debe organizar en un mínimo de cinco sesiones por rata.



6. Bibliografía

- Antal A., Kincses TZ., Nitsche MA. & Paulus W. (2003). Modulation of moving phosphene thresholds by transcranial direct current stimulation of VI in human. *Neuropsychol.* 41: 1802-1807.
- Barrett BT., Pacey IE., Bradley A., Thibos LN & Morrill P. (2003). Nonveridical visual perception in human amblyopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44(4): 1555-67. w
- Bradley A & Freeman RD. (1981). Contrast sensitivity in anisometric amblyopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 21(3): 467-476.
- Bauer JH. (1973). Development of visual Cliff discrimination by infant hooded rats. *J Comp Physiol.* 84: 380-385.
- Bikson M., Datta S., Rahman A & Scaturro, J. (2010). Electrode montages for tDCS and weak transcranial electrical stimulation: Role of “return” electrode’s position and size. *Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiol.* 121(12): 1976-1978
- Booher HR & Walk RD. (1968). Apparatus for the differential visual depth threshold and its determination in the hooded rat. *Psychon Sci.* 12: 187-188
- Cancedda L., Putignano E., Sale A., Viegi A., Bernardi N & Maffei L. (2004). Acceleration of visual system development by environmental enrichment. *J Neurosci.* 24: 4840- 4848.
- Castaño-Castaño, S. (2017). “Rehabilitación de la función visual mediante tDCS en ratas Long Evans ambliopes (Tesis doctoral). Universidad de Almería, Almería, España.
- Coleman KA & Mitrofanis J. (1996) Organization of the visual reticular thalamic nucleus of the rat. *Eur J Neurosci.* 8: 388-404.
- Das S., Holland P., Maarten A., Frens MA & Donchin O. (2016). Impact of Transcranial Direct Current Stimulation (TDCS) on Neuronal Functions. *Front Neurosci.* 10: 550.



- Ding J & Levi DM. (2014). Rebalancing binocular vision in amblyopia. *Ophthalmic Physiol Opt.* 34(2): 199–213.
- Duffy., K.R., Donald, E & Mitchell, D.E. (2013). Darkness alters maturation of visual cortex and promotes fast recovery monocular deprivation. *Curr.Biol.* 23, 382-386.
- Duffy FH., Burchfiel JL., Mower GD., Joy RM & Snodgrass SR. (1985). Comparative pharmacological effects on visual cortical neurons in monocularly deprived cats. *Brain Res.* 339(2): 257-264.
- Farivar R., Thompson B., Mansouri B & Hess RF. (2011). Interocular suppression in strabismic amblyopia results in an attenuated and delayed hemodynamic response function in early visual cortex. *J Vis.* 11(14): 1-12.
- Fernandes L., Custodio IC., Pinto L., Souza A., Deitos A., Volz MS., Fregni F., Caumo W & Torres ILS. (2012). Neurobiological Effects of Transcranial Direct Current Stimulation: A Review *Front Psychiatry.* 3:110.
- Fu M & Zuo Y. (2011). Experience-dependent structural plasticity in the cortex. *Trends Neurosci.* 34(4): 177-187.
- Harvey AR & Worthington DR. (1990). The projection from different visual cortical areas to the rat superior colliculus. *J Comp Neurol.* 298: 281-292.
- Hess RF., Thompson B & Baker DH. (2014). Binocular vision in amblyopia: structure, suppression and plasticity. *Ophthalmic Physiol Opt.* 34:146-162
- Ho CS & Giaschi DE. (2009). Low- and High-level motion perception deficits in anisometric and strabismic amblyopia: evidence from fMRI. *Vision Res.* 49(24): 2891- 2901.
- Holmes JM & Clarke MP. (2006). Amblyopia. *Lancet.* 367: 1343-1351.
- Johnston MV. (2009). Plasticity in developing brain: implications for rehabilitation. *Developmental disabilities. Res rev.* 15: 94-101.
- Jones EG. (1985). The thalamus. *Plenum Press.* New York.



- Kiorpes L & Mckee S. (1999). Neural mechanism underlying amblyopia. *Curr Opin Neurobiol.* 480-486.
- Kraft A., Roehmel, J., Olma MC., Schmidt S., Irlbacher K & Brandt SA. (2010). Transcranial direct current stimulation affects visual perception measured by threshold primetry. *Exp Brain Res.* 207: 283-290.
- Li H., Lei X., Yan T., Li H., Huang B & Li L. (2015). The temporary and accumulated effects of transcranial direct current stimulation for the treatment of advanced Parkinson's disease monkeys. *Sci Rep.* 5: 12178.
- Lund JS & Wu CQ. (1997). Local circuit neurons of macaque monkey striate cortex. IV: neurons of laminae 1-3A. *J Comp Neurol.* 384: 109-126.
- Mansouri B., Thompson B & Hess RF. (2008). Measurement of suprathreshold binocular interactions in amblyopia. *Vision Res.* 48(28): 2775-2784.
- Mckee SP., Levi DM & Movshon JA. (2003). The pattern of visual deficits in amblyopia. *J Vis.* 3: 380-405.
- Panel de la Academia Americana de Oftalmología Pediátrica y Estrabismo. (2007). Standards of Practice Preferred Guidelines. Amblyopie. San Francisco, CA: Academia Americana de Oftalmología.
- Puestas D. (1998). Early diagnostic of amblyopia and strabismus in childhood.. *Pediatría Integral* 77.
- Polyak, S. (1957). "The vertebrate visual system." University of Chicago Press, Chicago.
- Sanderson KJ., Dreher B & Gayer N. (1991). Prosen- cephalic connections of striate and extrastriate areas of rat visual cortex. *Exp Brain Res.* 8.
- Stagg CJ., Best JC., Stephenson MC., O'Shea J., Wylezinska M., Kincses ZT., Morri PG., Matthews PM & Johansen-Berg H. (2009). Polarity-Sensitive Modulation of Cortical Neurotransmitters by Transcranial Stimulation. *J Neurosci.* 29(16): 5202-5206.



Wiesel TN & Hubel D. (1963). Single-cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye. *J Neuropshysiol.* 26: 1003-1017.

Zilles K., Zilles B & Schleicher A. (1980). A quan- titive approach to cytoarchitectonics V1. The areal pattern of the cortex in the albino rat. *Anat Embryol.* 159: 335-360.