



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PLAN DE ESTUDIOS COMBINADOS EN MEDICINA (PECEM)**  
**HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"**

**"EFECTO DE LA INHIBICIÓN TEMPORAL DE LA CORTEZA ORBITOFRONTAL DERECHA  
SOBRE LA PERCEPCIÓN CONSCIENTE A ESTÍMULOS ODORANTES EN SUJETOS  
SANOS"**

# **TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**DOCTOR EN MEDICINA**

**PRESENTA:**

**MÉDICO CIRUJANO GABRIEL VILLAFUERTE JIMÉNEZ**

**TUTOR PRINCIPAL**

DR. OSCAR ARIAS CARRIÓN

Hospital general "Dr. Manuel Gea González"

**COMITÉ TUTORAL**

DRA. ROSALINDA GUEVARA ROJAS

Facultad de Medicina, UNAM

DR. GABRIEL GUTIERREZ OSPINA

Instituto de investigaciones Biomédicas, UNAM

Ciudad Universitaria, CDMX noviembre 2020



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# Dedicatorias

A mi familia de sangre:

- A mis papás, hermano, tíos, primos y abuelos, quienes me apoyaron en todo momento.
- Esta tesis está especialmente dedicada a mi abuela Meli que partió durante la realización de mi doctorado. Te extrañamos abuela.

A mi familia no de sangre:

- A mis amigos de la carrera, especialmente mis compañeros del internado. Hicieron el año más complicado del mundo la mejor experiencia de vida.
- A mis amigos de la infancia que, aunque los años pasen siguen siendo vitales.
- A Pia por que eres el *logos* que me habla, el motor primario de mi universo, la sustancia de mi metafísica, el *cogito* de mi discurso y la objetividad de la consciencia. ¿Qué es del mundo sin su esencia?

# Agradecimientos

Agradezco enormemente a la Universidad Nacional Autónoma de México a la Facultad de Medicina y al Plan de Estudios Combinados en Medicina (PECEM). Sin el apoyo de estas grandes instituciones nunca hubiera logrado poder llevar a cabo esta tesis doctoral.

Agradezco mi tutor principal el Doctor Oscar Arias Carrión por su confianza y apoyo al dejarme elegir un proyecto que me apasionara. Sin su ayuda y dedicación no sería capaz de desempeñarme profesionalmente como lo hago hoy.

Agradezco a la Dra. Rosalinda Guevara Rojas y al Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina por sus grandes aportaciones a mi trabajo.

Agradezco enormemente a mis compañeros de la Unidad de trastornos del Movimiento pues sin su apoyo no hubiera podido completar mi proyecto de doctorado. Agradezco especialmente al Dr. Adán pues su participación en mi proyecto fue vital para que se pudiera llevar a cabo.

Agradezco específicamente a la Dra. Ana Flisser, al Dr. Arturo Cerbulo y a la Dra. Tanya Plett por su tiempo y paciencia.

Le agradezco enormemente a la Dra. Pia Marino por acompañarme en esta difícil travesía y no dejarme caer cuando así lo parecía.

Mención aparte merecen mis sujetos de estudio que me brindaron su confianza y tiempo para poder realizar mi tesis doctoral.

# Resumen

La corteza orbitofrontal (COF) derecha ha sido propuesta como la región en donde la percepción olfatoria consciente se genera; sin embargo, la evidencia que soporta esta hipótesis ha sido recopilada de estudios de neuroimagen y lesiones en donde solamente se puede establecer correlación y no un patrón temporal. La estimulación tipo theta burst continua (cTBS) causa una disrupción reversible de la actividad cortical y se ha utilizado con éxito para inhibir la COF derecha. Para superar las limitaciones intrínsecas de la evidencia experimental, se realizó un estudio cruzado, doble ciego, prospectivo y longitudinal para evaluar cambios en la habilidad para detectar estímulos odorantes. Todos los sujetos recibieron cTBS real y sham. Los procedimientos experimentales se realizaron en dos diferentes sesiones con una separación de cuando menos una semana. Un total de 15 sujetos completaron el experimento y sus datos fueron utilizados en el análisis (10 mujeres y 5 hombres, con edad promedio de  $22.40 \pm 3.41$  años). Cada sesión consistió en dos mediciones diferentes de la percepción consciente olfatoria: una basal y otra 5 min después de la cTBS real/sham. Comparado con el basal, las respuestas correctas en la tarea de percepción consciente tras la estimulación sham aumentaron ( $p = 0.010$ ), mientras que las respuestas correctas tras la estimulación real disminuyeron ( $p = 0.017$ ). Nuestros resultados soportan que la hipótesis que la COF derecha es un nodo importante de una red compleja requerida para que la percepción consciente olfatoria ocurra. El mecanismo exacto que explique nuestros resultados es poco claro y puede ser explicado por una disrupción de otras funciones cognitivas asociadas con la COF derecha.

# Abstract

The right orbitofrontal cortex (rOFC) has been proposed as the region where conscious olfactory perception arises; however, evidence supporting this hypothesis has all been collected from neuroimaging and lesion studies in which only correlation and not a temporal pattern can be established. Continuous theta burst stimulation (cTBS) causes a reversible disruption of cortical activity and has been used successfully to disrupt orbitofrontal activity. To overcome intrinsic limitations of current experimental research, a crossover, double-blind, prospective and longitudinal study was carried out in which cTBS was applied over the rOFC to evaluate changes in the ability to detect odorant stimuli. All subjects received real and sham cTBS. Experimental procedures were done in two different sessions with a separation of at least one week between them to avoid carryover and learning effects. A total of 15 subjects completed the experiment, and their data were included in the final analysis (10 women and 5 men, mean age:  $22.40 \pm 3.41$  years). Every session consisted of two different measures of the conscious olfactory perception task: A baseline measure and another one done 5 minutes after cTBS/sham. Compared to baseline, marks in the olfactory task during the sham cTBS session increased ( $p = 0.010$ ), while marks during the real cTBS session decreased ( $p = 0.017$ ). Our results support the hypothesis that rOFC is an important node of a complex network required for conscious olfactory perception to arise. However, the exact mechanism that explains our results is unclear and could be explained by the disruption of other cognitive functions related to the rOFC.

# ÍNDICE

<b>Dedicatorias</b> .....	<b>1</b>
<b>Agradecimientos</b> .....	<b>2</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>3</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>4</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>9</b>
<b>ABREVIATURAS UTILIZADAS</b> .....	<b>9</b>
<b>Antecedentes</b> .....	<b>10</b>
<b>CAPÍTULO I. CONSCIENCIA</b> .....	<b>11</b>
Definición y estados de consciencia.....	11
Contenidos de la consciencia.....	12
Problema mente-cuerpo.....	13
Visiones con respecto al problema mente-cuerpo.....	14
El problema difícil de la consciencia.....	19
Estudio científico de la consciencia.....	20
Teoría neurobiológica de la consciencia.....	20
<b>CAPÍTULO II. ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL Y SUS APLICACIONES EN EL ESTUDIO DE LA CONSCIENCIA</b> .....	<b>23</b>
Neuromodulación.....	23
Bases físicas de la estimulación magnética transcraneal.....	24
Estimulación magnética transcraneal repetitiva.....	28
MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA TMS REPETITIVA (rTMS).....	30
Inhibición de funciones corticales por rTMS.....	31
Paradigmas experimentales para neurociencias cognitivas con rTMS.....	33
La rTMS como herramienta de estudio para la consciencia.....	37
<b>CAPÍTULO III. SISTEMA OLFATORIO</b> .....	<b>38</b>
Vía olfatoria.....	39
Disfunción olfatoria y modificación del olfato.....	46
Valoración de la capacidad olfatoria.....	48
<b>CAPÍTULO IV. CORTEZA ORBITOFRONTAL</b> .....	<b>51</b>
Neuroanatomía de la corteza orbitofrontal.....	51

Organización Arquitectónica y principales circuitos de la COF.....	53
Funciones neuropsicológicas de la Corteza Orbitofrontal.....	54
Estimulación magnética transcraneal sobre la corteza orbitofrontal .....	56
<b>CAPÍTULO V. CONSCIENCIA OLFATORIA .....</b>	<b>60</b>
Diferencias entre la consciencia olfatoria y la consciencia de otros sentidos.....	60
Funciones olfatorias de la Corteza Orbitofrontal.....	62
Corteza orbitofrontal derecha como correlato neurológico de la consciencia .....	63
<b>Planteamiento del problema .....</b>	<b>65</b>
<b>Hipótesis .....</b>	<b>67</b>
<b>Objetivos .....</b>	<b>67</b>
Generales .....	67
Específicos .....	67
<b>Materiales y métodos .....</b>	<b>69</b>
Participantes.....	69
Diseño experimental .....	69
Estímulos odorantes.....	72
Umbral de detección olfatoria ( <i>Olfactory detection threshold</i> , ODT).....	72
Evaluación de la valencia olfatoria. ....	73
Prueba de percepción consciente olfatoria.....	73
Go/no-go task .....	74
Estimulación magnética transcraneal .....	76
Análisis estadístico.....	76
<b>Resultados.....</b>	<b>78</b>
<b>Discusión de resultados .....</b>	<b>86</b>
<b>Conclusiones .....</b>	<b>90</b>
<b>Referencias.....</b>	<b>92</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>106</b>
Go/no-Go task .....	106
Olfatómetro .....	107
Cálculo del umbral de detección olfatorio.....	111
Instrucciones para estimulación.....	113
<b>ARTÍCULO PUBLICADO EN FRONTIERS IN NEUROSCIENCE .....</b>	<b>115</b>



# ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. DISTINTOS ESTADOS DE CONSCIENCIA DESCRITOS POR EL NIVEL Y EL CONTENIDO DE CONSCIENCIA.....	11
FIGURA 2. SOLUCIONES DUALISTAS AL PROBLEMA MENTE-CUERPO.....	16
FIGURA 3. SOLUCIONES MONISTAS AL PROBLEMA MENTE-CUERPO.....	19
FIGURA 4. DIVERSOS CORRELATOS NEUROLÓGICOS DE LA CONSCIENCIA.....	22
FIGURA 5. MATRIZ QUE MUESTRA LA AMPLIA GAMA DE TÉCNICAS DE NEUROMODULACIÓN.....	23
FIGURA 6. ELECTROMAGNETO.....	25
FIGURA 7. UN CAMPO MAGNÉTICO CONSTANTE NO GENERA UNA CORRIENTE ELÉCTRICA.....	25
FIGURA 8. GENERACIÓN DE CORRIENTE ELÉCTRICA A PARTIR DE UN CAMPO MAGNÉTICO QUE CAMBIA SU MAGNITUD CONFORME AL TIEMPO.....	26
FIGURA 9. FUNDAMENTO FÍSICO DE LA ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL.....	26
FIGURA 10. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE UN EQUIPO DE ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL.....	27
FIGURA 11. DISTINTAS FRECUENCIAS Y PATRONES DE ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL REPETITIVA.....	29
FIGURA 12. MATRIZ QUE MUESTRA LOS EFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL A DIVERSOS NIVELES DE ORGANIZACIÓN Y EN DIVERSOS MOMENTOS.....	31
FIGURA 13. EJEMPLOS DE LOS CAMBIOS METABÓLICOS ESPERADOS LA CTBS.....	33
FIGURA 14. DESCRIPCIÓN DE UN EXPERIMENTO ON-LINE.....	34
FIGURA 15. DESCRIPCIÓN DE UN EXPERIMENTO OFF-LINE.....	35
FIGURA 16. CASCADA DESENCADENADA POR LA UNIÓN DE UN ODORANTE A SU RECEPTOR EN LA MEMBRANA DE UNA NEURONA DEL EPITELIO OLFATORIO.....	39

FIGURA 17. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LOS DIVERSOS TIPOS DE CÉLULAS QUE EXISTEN EN EL EPITELIO Y BULBO OLFATORIO.....	41
FIGURA 18. CORTE CORONAL DE UN BULBO OLFATORIO CON LAS CAPAS DEL MISMO.....	43
FIGURA 19. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA VÍA OLFATORIA.....	45
FIGURA 20. ÁREAS OLFATORIAS VISTAS DESDE LA SUPERFICIE DEL SISTEMA NERVIOSO. ....	46
FIGURA 21. GIROS Y SURCOS DE LA CORTEZA ORBITOFRONTAL.....	52
FIGURA 22. DIVISIONES CITO ARQUITECTÓNICAS DE LA COF.....	54
FIGURA 23. LESIÓN ORBITOFRONTAL Y RELACIÓN CON LA PERCEPCIÓN CONSCIENTE. ....	64
FIGURA 24. FLUJOGRAMA Y PROCEDIMIENTOS REALIZADOS DURANTE UNA SESIÓN.....	71
FIGURA 25. DESCRIPCIÓN DE UN BLOQUE EN LA PRUEBA DE EVALUACIÓN DE PERCEPCIÓN OLFATORIA CONSCIENTE. ....	74
FIGURA 26. COMPONENTES Y DURACIÓN DE LA GO/NO-GO TASK.....	75
FIGURA 27. UMBRALES DE DETECCIÓN OLFATORIA DE CADA UNO DE LOS ODORANTES EN AMBAS SESIONES.....	79
FIGURA 28. VALENCIA DE LOS ODORANTES EN LAS DOS DIFERENTES SESIONES. ....	80
FIGURA 29. UMBRAL MOTOR DE ACTIVACIÓN EN AMBAS SESIONES.....	81
FIGURA 30. ERRORES TOTALES EN LA GO/NO-GO TASK. ....	82
FIGURA 31. RESPUESTAS CORRECTAS EN PRUEBA DE PERCEPCIÓN CONSCIENTE OLFATORIA.....	83
FIGURA 32. ANÁLISIS GRÁFICO DE HIT RATE Y CORRECT REJECTION RATE ENTRE CONDICIONES.....	84

# ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. MECANISMOS Y ETIOLOGÍAS DE LA DISFUNCIÓN OLFATORIA.....	47
TABLA 2. ESTUDIOS QUE UTILIZAN ALGÚN TIPO DE ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL PARA MODIFICAR LA FUNCIÓN DE LA CORTEZA ORBITOFRONTAL. ....	58
TABLA 3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN. ....	70
TABLA 4. RESULTADOS DE LAS DIFERENTES VARIABLES MEDIDAS EN AMBAS SESIONES.....	78

## ABREVIATURAS UTILIZADAS

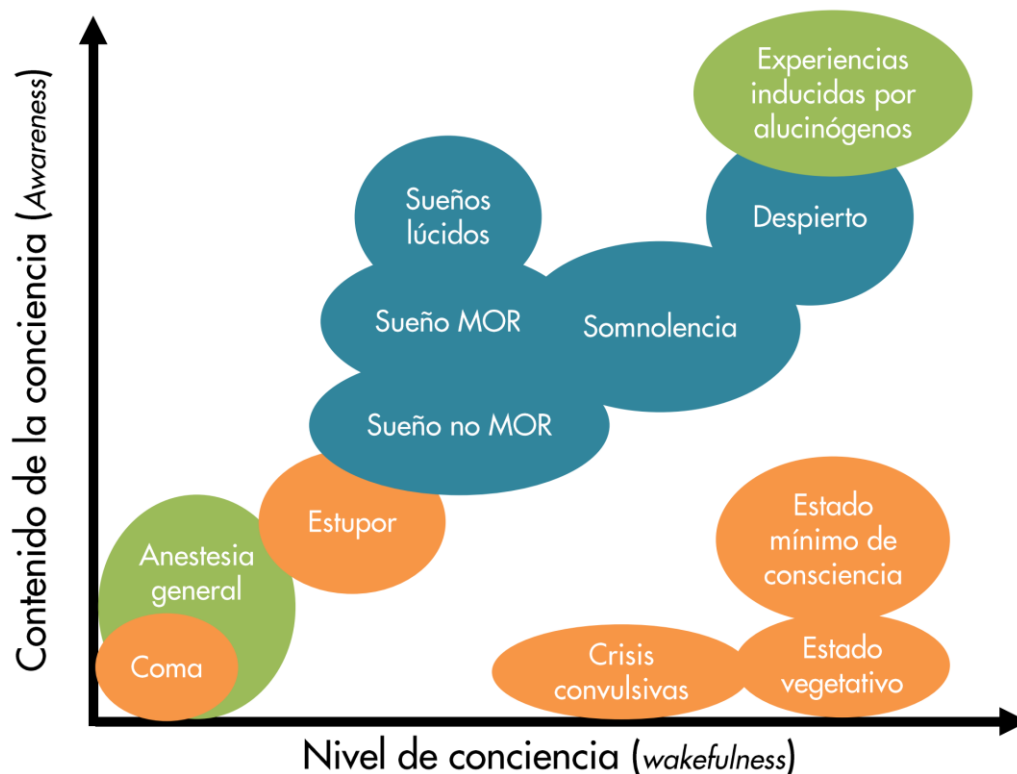
Abreviatura	Significado
rTMS	Estimulación magnética transcraneal repetitiva
iTBS	Estimulación theta burst intermitente
cTBS	Estimulación theta burst continua
LTP	Potenciación a largo plazo
LTD	Depresión a largo plazo
fMRI	Resonancia magnética funcional
PET	Tomografía por emisión de positrones
EEG	Electroencefalograma
MEG	Magnetoencefalograma
AMPc	Adenil mono fosfato cíclico
COF	Corteza orbitofrontal
UPSIT	<i>University of Pennsylvania Smell Identification Test</i>
PST	<i>Pocket smell test</i>
Q-SIT	<i>Quick Smell identification Test</i>
ODT	Umbral de detección olfatoria
AMT	Umbral motor de activación
S	Segundos
Hz	Hertz

# Antecedentes

# CAPÍTULO I. CONSCIENCIA

## DEFINICIÓN Y ESTADOS DE CONSCIENCIA

La definición de consciencia es problemática debido a la poca difusión de una nomenclatura clara y homogénea, sobre todo en español, por lo que es pertinente establecer un marco conceptual claro. Un estado consciente es aquel estado que permite la existencia de experiencias subjetivas o “qualias”. Los estados conscientes a su vez pueden ser caracterizados de acuerdo con el nivel de consciencia (*wakefulness*) y al contenido de la consciencia (*awareness*) <sup>1</sup>.



**FIGURA 1. DISTINTOS ESTADOS DE CONSCIENCIA DESCRITOS POR EL NIVEL Y EL CONTENIDO DE CONSCIENCIA.** El fenómeno de la consciencia puede ser entendido como un gradiente de estados en los cuáles sus determinantes son el nivel y el contenido de la consciencia. En color azul se encuentran estados normales en los cuáles puede estar cualquier ser humano. En color verde se encuentran aquellos estados que requieren de algún tipo de fármaco para lograrse. En naranja se encuentran aquellos estados de consciencia causados por una situación patológica. Modificado de Laureys, 2005.<sup>1</sup>

El concepto de nivel de consciencia se equipara al nivel de vigilia que presenta un sujeto y los contenidos de la consciencia son los patrones específicos de cualidades que aparecen en las experiencias subjetivas<sup>2</sup>.

Con la ayuda de estos dos conceptos, se puede definir un gradiente de estados conscientes en el cual pueden existir una gran cantidad de estados en los que varía el nivel de consciencia y el contenido de la consciencia. De esta forma, un estado de coma o anestesia profunda es un estado con bajo nivel de consciencia y donde no existen experiencias conscientes; por el contrario, en el sueño de movimientos oculares rápidos existe un nivel de consciencia bajo, pero existe contenido consciente (ensoñaciones). En la **Figura 1** se ejemplifican la gran cantidad de combinaciones y estados de consciencia que pueden existir<sup>1</sup>.

## **CONTENIDOS DE LA CONSCIENCIA**

Como se mencionó anteriormente, los contenidos de la consciencia son aquellas características específicas de cualidades que aparecen en las experiencias subjetivas<sup>2</sup>. La subjetividad —bajo este contexto— se refiere a que es una experiencia única, personal, irrepetible y únicamente experimentada por un ente. Estas experiencias subjetivas pueden ser sensoriales, emocionales, motoras, cognitivas, afectivas o auto reflectivas<sup>2</sup>. Las experiencias conscientes que cumplen las características anteriores son denominadas *qualias*. Al conjunto de todos los *qualias* que un ser experimenta se le denomina consciencia fenomenológica<sup>3,4</sup>.

La consciencia fenomenológica es dividida en central y periférica, siendo la central aquella en la que se engloban experiencias que se encuentran más claras, intensas y detalladas; mientras que la consciencia periférica incluye aquellas experiencias subjetivas que son más borrosas y difusas. Los bordes entre estos dos tipos de consciencia son poco definidos y están influenciados por la atención selectiva que se le dé a una experiencia en específico<sup>2</sup>. Aunque intrínsecamente relacionadas, la consciencia y la atención no son sinónimos ya que la atención es solamente la selección de alguna información para mejor y más detallado procesamiento; la atención amplifica algunas experiencias, pero no indica necesariamente consciencia. Cuando se pone un estímulo subliminal en un video, la atención es dirigida hacia ese estímulo y genera cambios en el cerebro, pero no se integran a la consciencia<sup>5</sup>.

En la consciencia reflectiva se toman las experiencias de la consciencia fenomenológica central y son llevadas a un nivel cognitivo superior de análisis. La consciencia reflectiva toma la experiencia subjetiva y produce contenidos proposicionales respecto a la experiencia. Por ejemplo, cuando se sufre dolor y el estímulo llega a los centros integradores de la consciencia la experiencia subjetiva de dolor llega a la consciencia fenomenológica central y después de unos breves segundos la consciencia reflectiva empieza a nombrar, evaluar y etiquetar el dolor para así hacer juicios sobre el mismo.

Cuando la consciencia reflectiva es utilizada para hacer reportes verbales sobre los contenidos de la consciencia, se dice que el sujeto realiza introspección. El procedimiento incluye que el sujeto elige ciertos contenidos de su consciencia fenomenológica, centrando su atención en ellos, para así utilizar su consciencia reflectiva para emitir juicios sobre esta experiencia subjetiva y posteriormente reportarlos. Durante gran parte del siglo XX, este método para reportar la consciencia fue desechado y se prefirió cambios conductuales para evaluar los contenidos de la mente. Sin embargo, actualmente la introspección descriptiva sigue siendo válida como método científico. Es importante realizar esta introspección justo después de que el sujeto tuvo la experiencia, para así evitar sesgos de memoria.

Cuando un sujeto utiliza su consciencia reflectiva para evaluar la experiencia subjetiva de ser el mismo o en su defecto su concepto de yo, se denomina consciencia de sí mismo. Este tipo de consciencia es una función mental compleja que requiere de otro tipo de funciones mentales como acceso a la memoria a largo plazo, memoria autobiográfica y auto representación corporal.

## **PROBLEMA MENTE-CUERPO**

Uno de los más grandes misterios para la ciencia es determinar como un sistema físico como el sistema nervioso puede dar lugar a una serie de experiencias subjetivas que parecen no tener un lugar en el mundo físico. Desde la antigua Grecia, se ha hecho una distinción entre el mundo de las ideas y el mundo terrenal, pero fue el filósofo francés René Descartes el primero en formular el problema mente-cuerpo. Según Descartes, los pensamientos no están formulados por el mismo tipo de sustancia que los cuerpos y entes físicos: los pensamientos no tienen masa ni distribución espacial. De esta forma, debería de existir algún tipo de mecanismo mediante el cual la sustancia física pueda influir en la sustancia mental o viceversa. Esta interacción es necesaria para poder entender situaciones cotidianas como el libre albedrío, la percepción consciente de estímulos sensoriales y cualquier experiencia

mental. El cómo interaccionan los dos tipos de sustancias para explicar la vida mental se le conoce como el problema mente-cerebro<sup>6</sup>.

## **VISIONES CON RESPECTO AL PROBLEMA MENTE-CUERPO**

Diversas soluciones se han planteado al problema mente-cerebro. Las dos grandes corrientes filosóficas que tratan de explicar el problema mente-cuerpo son el dualismo y el monismo<sup>2</sup>.

### **DUALISMO**

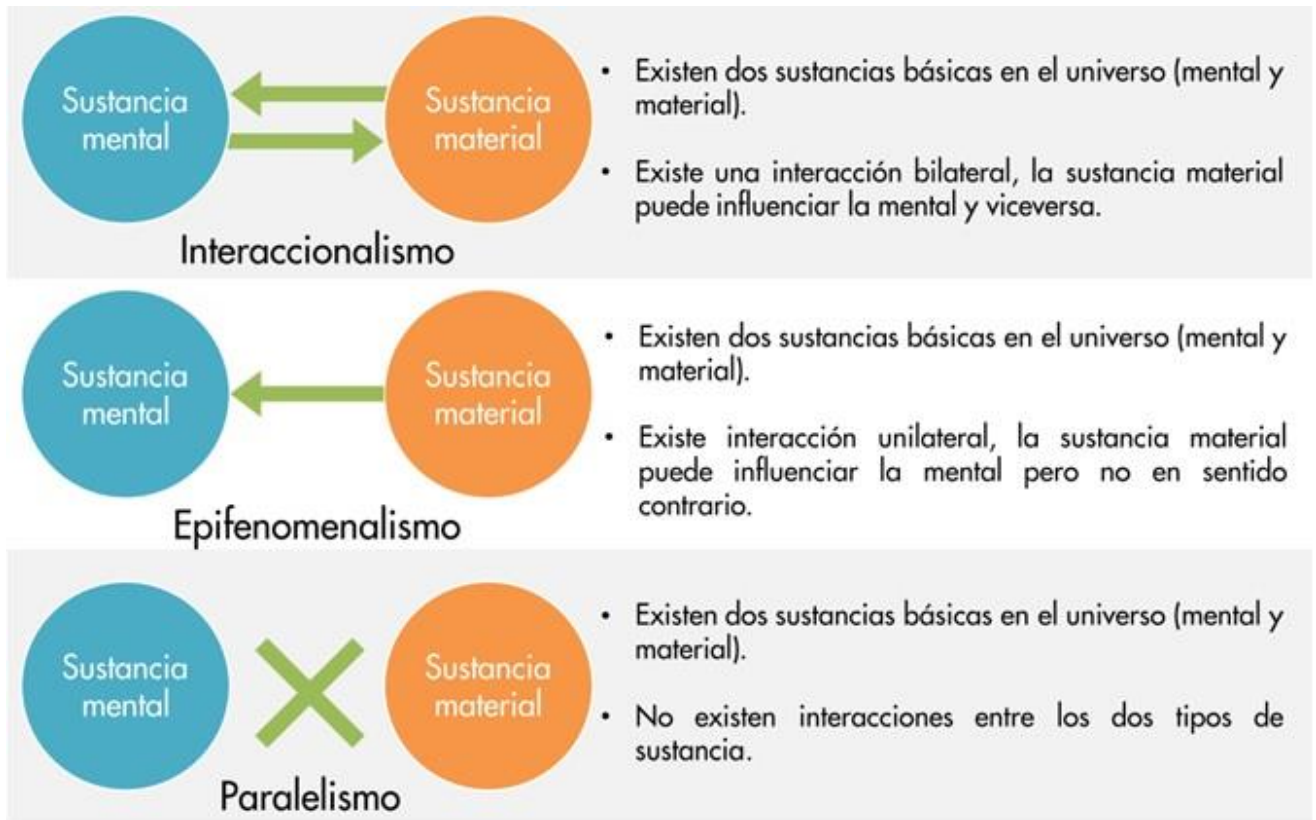
Esta corriente filosófica refiere que todo el universo se encuentra creado por dos tipos de sustancias básicas diferentes: una sustancia física, que genera toda las partículas elementales y por tanto la materia física, y una sustancia mental, no física, que genera los pensamientos. Las soluciones dualistas sostienen que ambos tipos de sustancias son reales y fenómenos que existen por sí mismos. Ninguna de las dos sustancias dependen entre sí, es decir, la sustancia física no genera la sustancia mental ni viceversa<sup>2</sup>.

- **Dualismo cartesiano (interaccionismo).** Se trata de la teoría de la consciencia más famosa de la historia. Descartes refiere que existen dos tipos de sustancias: *res cogitans* (sustancia que piensa) y *res extensa* (sustancia que se extiende especialmente). La sustancia que piensa no se puede ubicar espacialmente en ningún sitio del mundo físico, mientras que la sustancia material forma nuestros cuerpos físicos. Aunque diferentes, estas dos sustancias están íntimamente relacionadas y existe un sitio donde interaccionan causalmente: el cerebro (específicamente, la glándula pineal)<sup>7</sup>. Descartes no identifica un mecanismo mediante el cual estas dos sustancias interactúan. Aquellas teorías filosóficas en las que se identifican dos sustancias y una interacción entre ellas, se les conoce como interaccionistas<sup>7</sup>.
- **Epifenomenalismo.** El principal problema con las teorías interaccionistas es explicar un mecanismo mediante el cual la sustancia mental tiene un efecto sobre la sustancia física y viceversa. El epifenomenalismo se deshace de este problema al negar que la sustancia mental pueda tener un efecto sobre la sustancia física y afirmar que la única relación que existe es que la sustancia física puede modificar la sustancia mental. Esta teoría explica, sin problemas, cómo el mundo físico puede generar percepciones sensoriales y la actividad neuronal general el



comportamiento observado: las experiencias conscientes son meros epifenómenos de la actividad eléctrica cerebral; es decir, existen, pero no pueden influenciar la materia física. No obstante, el eliminar cualquier relación causal que pueda tener la sustancia mental con la física lleva a la conclusión de que nuestra mente no puede influenciar el mundo que nos rodea, no tenemos control sobre nuestras acciones y cualquier decisión que tomemos es un simple epifenómeno de la actividad neuronal. Esta conclusión es claramente ajena a nuestra realidad cotidiana donde la actividad mental comúnmente modifica nuestro comportamiento<sup>2</sup>.

- **Paralelismo.** Esta postura sobre el problema mente-cuerpo, dictamina que no existe ninguna relación causal entre la sustancia física y la sustancia mental. Explica que, aunque existe perfecta armonía entre los estímulos físicos y las percepciones conscientes a estos estímulos, no se trata de una causalidad entre uno y otro, sino de una mera correlación. Desafortunadamente, esta teoría genera un problema igual de complejo que el que trata de resolver: ¿Cómo es que se logra esta sincronización tan perfecta entre el mundo físico y el mundo mental? El paralelismo es generalmente visto desde un punto de vista teológico en donde un ser superior es el responsable de mantener la correlación entre las dos sustancias<sup>2</sup>.



**FIGURA 2. SOLUCIONES DUALISTAS AL PROBLEMA MENTE-CUERPO.**  
 Las soluciones dualistas afirman que existen dos sustancias básicas en el universo y se diferencian por como estas dos sustancias interactúan o si lo hacen o no.

## MONISMO

En contraste con el dualismo, el monismo únicamente identifica un solo tipo de sustancia básica como la generadora de todas las cosas del universo. Sin embargo, las características y naturaleza de esta única sustancia están en debate. Actualmente, la ciencia afirma que existe un único tipo de sustancia (sustancia material) y que todos los fenómenos del universo pueden ser explicados sin la necesidad de agregar algún tipo de sustancia mental<sup>2</sup>.

- **Idealismo:** El idealismo propone que la sustancia fundamental del universo es la mental y por tanto niega la existencia o relevancia de la sustancia material. Bajo este concepto, la sustancia física es una mera ilusión provocada por la sustancia mental, es decir, toda la realidad es generada por nuestra experiencia consciente. Bajo este precepto, no existe —ni podrá existir— ninguna evidencia de la existencia del mundo material, pues cualquier evidencia tendrá que ser filtrada por las percepciones humanas<sup>2</sup>.
- **Materialismo:** El materialismo afirma que la única sustancia que existe es la material y esta da pie a todos los fenómenos del universo. Está firmemente establecida y soportada por las ciencias experimentales. Dentro del materialismo, no se puede apelar a una “sustancia mental” como explicación de los fenómenos conscientes que experimentamos día a día. El principal reto de la visión materialista es incluir la vida mental dentro de un universo materialista<sup>2</sup>. Existen actualmente tres formas de entablar las experiencias conscientes dentro del paradigma materialista:
  - **Materialismo eliminativo.** Niega la existencia de las experiencias conscientes. Afirma que al igual que como ha sucedido a lo largo de la historia de la ciencia, conceptos oscuros y misteriosos son reemplazados por teorías que explican y predicen los fenómenos (p. ej. el flogisto, éter, etc.). Los avances científicos, en un futuro, serán tales que se podrá explicar la existencia de experiencias conscientes sin necesidad de hacer referencia a una sustancia mental. La principal desventaja de esta posición es que, a diferencia de otros conceptos en la historia de la ciencia, las experiencias conscientes no se tratan de una hipotética entidad que explica la vida mental: es la vida mental en si misma<sup>2</sup>.
  - **Materialismo reductivo:** Acepta que los fenómenos conscientes existen, pero afirma que no se trata de una sustancia básica diferente; las experiencias conscientes no son más que

procesos cerebrales y, por tanto, explicables bajo el paradigma científico actual. Las experiencias conscientes son reducibles y, por ende, idénticas a un proceso biológico. Esta teoría afirma que en un futuro podremos encontrar procesos neurobiológicos que sean idénticos a las experiencias conscientes. Por ejemplo, la experiencia de color rojo será idéntica a una serie de neuronas que disparan a una frecuencia dada en un área cerebral discreta. Sin embargo, el materialismo reductivo elimina completamente la posibilidad de subjetividad en las experiencias conscientes; de ser cierto, el materialismo reductivo afirma que no existiría diferencia entre la percepción consciente al color rojo, ya que ésta es dada por un patrón neuronal específico y si dos personas tuvieran el mismo patrón tendrían la misma experiencia. Esto es claramente falso, pues las experiencias conscientes son únicas e incompatibles para quien las experimenta<sup>2</sup>.

- **Materialismo emergente:** la emergencia en el contexto de esta visión filosófica se refiere a la capacidad de que surjan nuevas propiedades en los sistemas físicos no determinadas o ausentes en niveles de organización inferiores. Estas nuevas propiedades son de igual manera físicas e implican novedad e impredecibilidad con respecto a la organización que las genera. De esta forma, la consciencia sería una propiedad emergente de sistemas físicos no predecible ni explicable por los niveles de organización inferiores. Esta visión se adecua notablemente a la realidad del sistema físico que da pie a la consciencia: el sistema nervioso es un sistema fisicoquímico extremadamente complejo. En este caso el nivel inferior de organización —billones de neuronas— carecen de la propiedad específica —consciencia— pero de la extremadamente compleja organización entre ellas, emerge la propiedad de consciencia. El principal reto de esta visión es explicar el mecanismo mediante el cual “emerge” la consciencia del sistema nervioso. Se diferencia del epifenomenalismo al afirmar que las propiedades conscientes son propiedades físicas<sup>2</sup>.
- **Monismo neutral:** Esta teoría afirma que la sustancia básica de la cual está creado el universo no es físico o mental, sino una sustancia más esencial que da pie a ambas sustancias o bien a una sustancia que tiene tanto propiedades mentales como físicas. Esta visión da pie a teorías panpsiquistas que afirman que la sustancia básica del universo es dual: una parte física y una parte mental. Todos los átomos y moléculas del universo también tienen una parte mental. La diferencia

entre un objeto que tiene experiencias conscientes y otro que no, se debe a la complejidad del mismo; por ejemplo, una roca no tendría experiencias conscientes debido a que se trata de un sistema muy simple mientras que un cerebro si las tendría al tratarse de un sistema complejo<sup>2</sup>.



**FIGURA 3. SOLUCIONES MONISTAS AL PROBLEMA MENTE-CUERPO.** Existen tres tipos de soluciones monistas al problema mente-cuerpo: idealismo, materialismo y monismo neutro. Cada una de estas teorías niega la existencia de más de una sustancia básica.

## EL PROBLEMA DIFÍCIL DE LA CONSCIENCIA

A lo largo de la historia, se han propuesto diversas teorías para explicar las experiencias conscientes, sin embargo, ninguna de las teorías propuestas explica correctamente. Por tanto, David Chalmers se refiere a este problema como el “problema difícil de la consciencia” para separar el problema mente-cuerpo de los “problemas fáciles de la consciencia”<sup>6</sup>. Los problemas fáciles de la consciencia responden preguntas asequibles dentro del paradigma científico actual tales como:

- ¿Cuáles son los neurotransmisores involucrados en tal estado consciente?
- ¿Qué áreas cerebrales están metabólicamente activas cuando la persona tiene una experiencia visual consciente?
- ¿Qué frecuencia de disparo neuronal está relacionada con las experiencias conscientes?

Estos problemas, aunque necesarios para el avance de la ciencia, ignoran y no responden el problema mente-cerebro: no dan una respuesta a como un sistema físico (sistema nervioso) interacciona con un sistema no físico (mente). Aun cuando se identifique que una actividad neuronal "X" (sustancia física) invariablemente conlleva a la aparición de una experiencia subjetiva "Y" (sustancia mental), el cómo esta actividad neuronal lleva a la experiencia quedará desconocido. No basta con conocer la relación y causalidad entre el cerebro y las experiencias subjetivas, sino que se debe explicar cómo es que surge esta causalidad. Esto es denominado la "brecha explicativa"<sup>8</sup>.

## **ESTUDIO CIENTÍFICO DE LA CONSCIENCIA**

Algunos filósofos plantean que el problema difícil y la brecha explicativa son irresolubles. Aunque existen diversos puntos a favor de esta postura, la historia de la ciencia nos ha demostrado que problemas que parecían irresolubles y sin una explicación aparente fueron totalmente explicados una vez que se hicieron los conocimientos científicos pertinentes (complejidad de los sistemas biológicos como problema y mecanismos de la evolución como conocimiento científico).

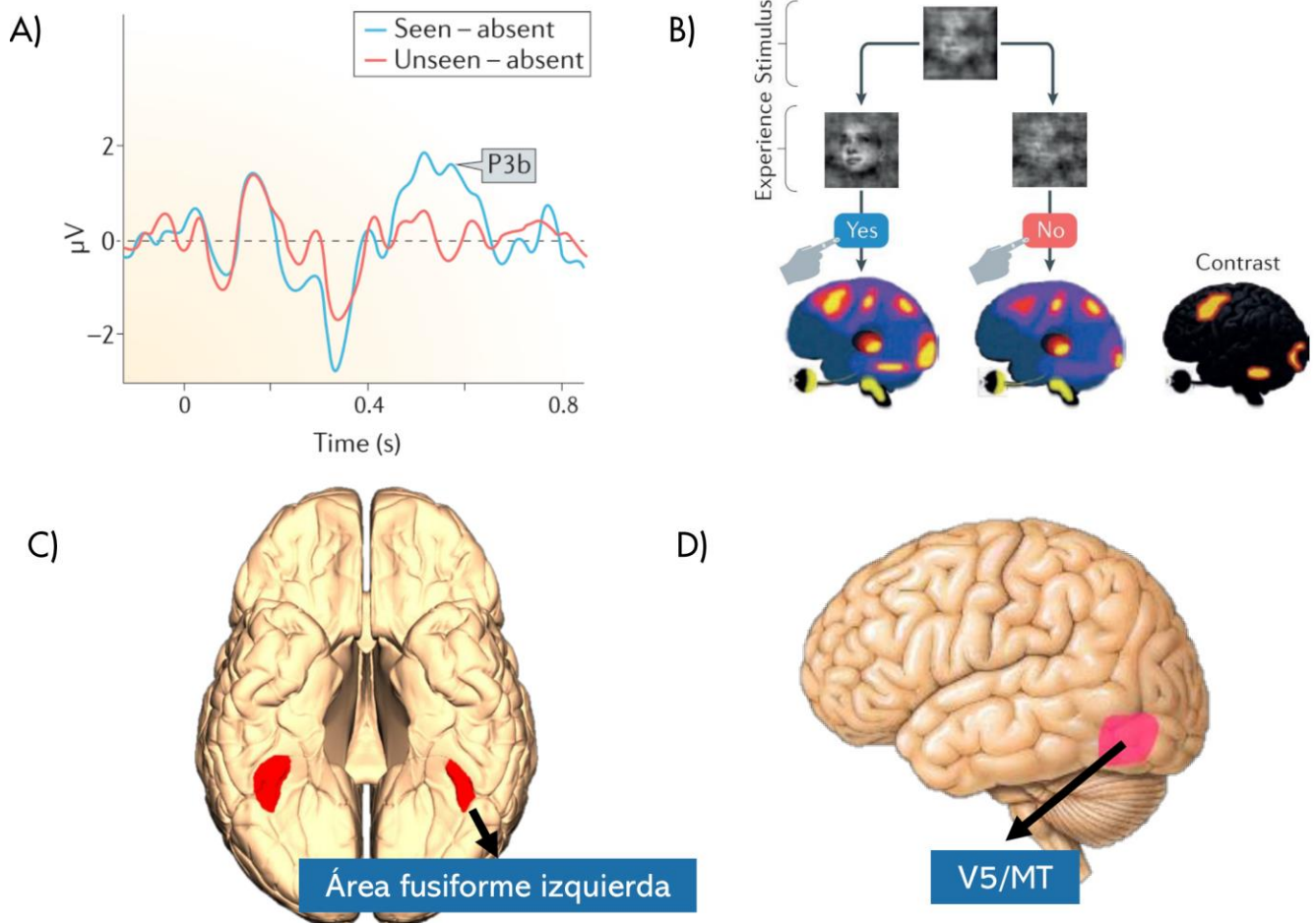
El paradigma científico actual ha adoptado una visión materialista sobre el problema mente-cuerpo; específicamente una visión materialista reductiva o emergentista donde la consciencia no es un fenómeno "misterioso" sino consecuencia directa de un sistema biológico, como lo es el sistema nervioso. Bajo esta visión materialista, se han desarrollado diversas teorías científicas para tratar de explicar las experiencias conscientes, entre las cuáles los correlatos neurológicos de la consciencia es la más aceptada y estudiada. <sup>9</sup>.

## **TEORÍA NEUROBIOLÓGICA DE LA CONSCIENCIA**

Hasta el día de hoy no se ha encontrado una experiencia subjetiva que pueda surgir en ausencia de la actividad eléctrica del cerebro. Al parecer, no puede existir un fenómeno consciente sin estar acompañado de eventos en el sistema nervioso. Sin embargo, el enunciado inverso no es cierto: no

todos los eventos neurales generan fenómenos conscientes. Esta relación intrínseca entre los fenómenos conscientes y el sistema nervioso, indica que cada evento consciente correlaciona con un fenómeno neural en el cerebro. El hecho de que dos eventos correlacionen, nos indica que de alguna forma están relacionados, aunque no necesariamente de forma causal. Esta es la base de la teoría neurobiológica de la consciencia<sup>10</sup>.

Esta teoría fue propuesta por los científicos Francis Crick y Christof Koch en 1990<sup>10</sup>. Dada la fama de Crick (por el descubrimiento de la estructura de la doble hélice del DNA) y Koch (neurocientífico), la teoría neurobiológica de la consciencia obtuvo amplio respaldo de la comunidad científica y la discusión de la consciencia entró de lleno en el campo de la ciencia<sup>9</sup>. De acuerdo con esta teoría, el tratar de definir la consciencia en este estado de la investigación resulta —por el momento— inalcanzable, por lo que la ciencia debería encargarse de encontrar los correlatos neurológicos de la consciencia, definiéndose estos como el sistema o actividad neural mínimo suficiente que invariablemente ocurre junto a una experiencia consciente de un tipo en específico<sup>9</sup>. Con respecto a esta proposición, se han descrito a detalle diversas áreas que cumplen los requisitos para ser correlatos neurológicos de diversos fenómenos conscientes, entre estos se encuentran el componente tardío de potenciales evocados por eventos visuales (P3B) para la consciencia visual<sup>11</sup>, el giro fusiforme izquierdo para la percepción consciente de caras<sup>12</sup> y el área V5/MT para la percepción consciente de movimiento<sup>13</sup> (ver **Figura 4**).



**FIGURA 4. DIVERSOS CORRELATOS NEUROLÓGICOS DE LA CONSCIENCIA.**

**A)** en este experimento se muestra que un aumento de la amplitud de P3B de un potencial evocado por un estímulo visual correlaciona con el la percepción consciente del estímulo (modificado de Koch y cols.<sup>14</sup>). **B)** Aproximación experimental para ubicar por medio de neuroimagen un correlato neurológico de la consciencia. En este estudio se le presenta a un individuo un estímulo poco claro y posteriormente se le pregunta la experiencia que obtuvo tras el estímulo; posteriormente, se realiza un contraste entre la actividad metabólica en donde hubo una experiencia consciente y entre los que no hubo una experiencia consciente (modificado de Koch y cols.<sup>14</sup>). **C)** Representación gráfica del área fusiforme izquierda, estudios donde se da estimulación eléctrica profunda sobre el área fusiforme disrumpe la percepción consciente a caras<sup>12</sup>. **D)** representación gráfica del área V5/MT; la disrupción de esta área por medio de estimulación magnética transcranial previene la visualización de movimiento<sup>13</sup>.



# CAPÍTULO II. ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL Y SUS APLICACIONES EN EL ESTUDIO DE LA CONSCIENCIA

## NEUROMODULACIÓN

La neuromodulación se define —según la sociedad internacional de neuromodulación— como la rama de la ciencia, medicina y bioingeniería, que incluye tecnología implantable y no implantable, eléctrica o química con el fin de mejorar el funcionamiento y la calidad de vida de los seres humanos<sup>15</sup>. Este tipo de tecnologías pueden ser usadas para modificar la función del sistema nervioso y por tanto lograr un cambio clínico o fisiológico. Existen diversas técnicas de neuromodulación y éstas se pueden clasificar de acuerdo a la invasividad de las mismas (si requieren de algún tipo de cirugía o internamiento) y de acuerdo al tipo de estímulo físico que utiliza para lograr cambios en el sistema nervioso<sup>16</sup>. En la **Figura 5** se hace un breve resumen de las técnicas más importantes.



**FIGURA 5. MATRIZ QUE MUESTRA LA AMPLIA GAMA DE TÉCNICAS DE NEUROMODULACIÓN.** En la presente imagen se diferencian por una parte las técnicas invasivas (requieren de cirugía, sedación o no se pueden llevar a cabo de forma rutinaria) y, por la otra, las no invasivas (estas se pueden llevar a cabo de forma rutinaria en el consultorio o laboratorio con muy bajo riesgo). De igual forma, las técnicas de neuromodulación se

pueden dividirse de acuerdo con el tipo de energía física que se utiliza para generar un cambio en el sistema nervioso. Se puede utilizar energía lumínica, energía magnética o energía eléctrica para generar un cambio en la actividad del sistema nervioso.

La técnica de neuromodulación que tiene más evidencia científica sobre su utilización, tanto en el ámbito científico como clínico, es la estimulación magnética transcraneal. Se trata de una técnica de neuromodulación que se clasifica como no invasiva y que hace uso de campos magnéticos pulsados para cambiar la fisiología del sistema nervioso.

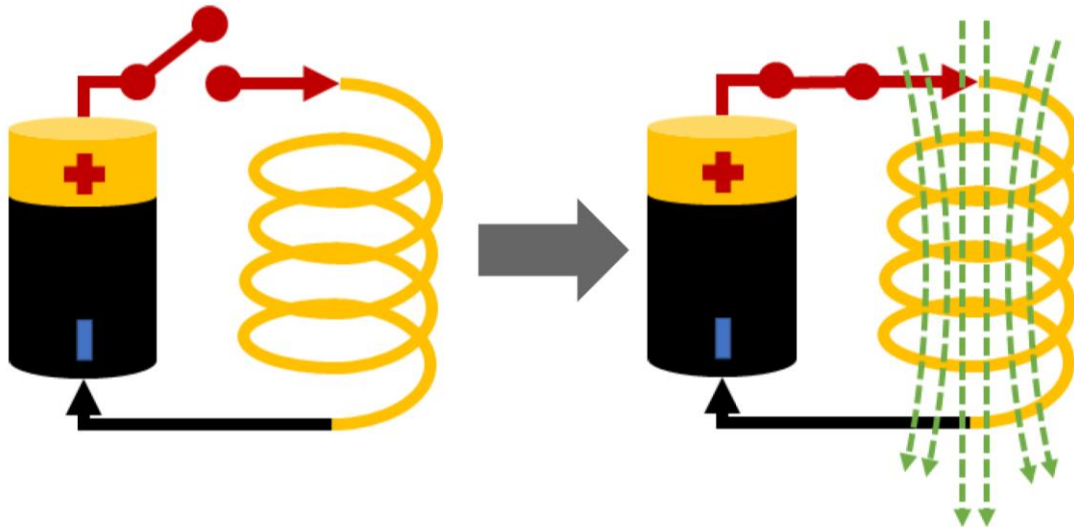
## **BASES FÍSICAS DE LA ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL**

La estimulación magnética transcraneal es un método seguro, no invasivo y no doloroso para la estimulación de la corteza cerebral<sup>17</sup>, el cual permite activar o inhibir la corteza cerebral por medio de un campo magnético. Su funcionamiento se basa en el principio de inducción electromagnética descubierto por Faraday en 1831<sup>18</sup>.

El principio de inducción electromagnética afirma que si se hace pasar corriente eléctrica (electrones) por una bobina (cable enrollado) se generará un campo magnético. La **Figura 6** ejemplifica este punto. De esta forma, Faraday hipotetizó que el colocar un campo magnético dentro de una bobina podría generar una corriente eléctrica, por lo que realizó el experimento que se muestra en la **Figura 7**. Faraday colocó un imán (campo magnético) dentro de una bobina esperando que el campo magnético generará una corriente eléctrica que pudiera ser medible por un voltímetro. Sin embargo, el experimento no mostró que un campo magnético de magnitud constante generara un campo eléctrico, por lo que a continuación realizó el experimento que se describe en la **Figura 8**. En este experimento, el campo magnético es movido verticalmente una y otra vez; de esta forma, la magnitud del campo magnético cambia conforme al tiempo y de esta forma se genera una corriente eléctrica. Por tanto, al variar la magnitud del campo magnético conforme al tiempo, genera una corriente eléctrica dentro de la bobina<sup>18</sup>.

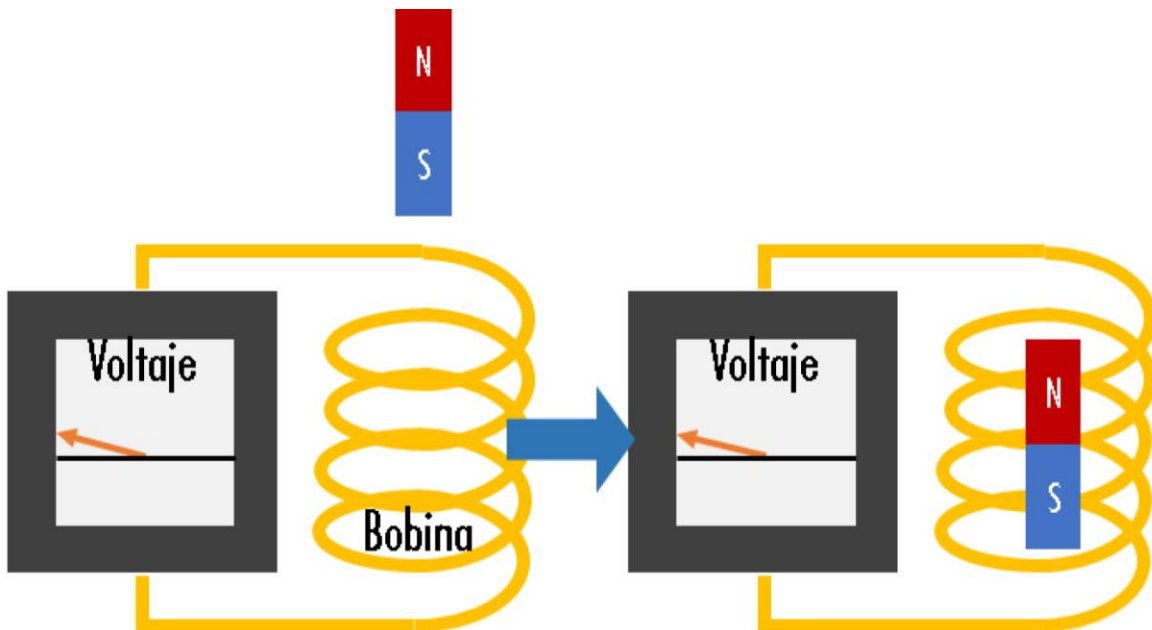
Al final, la estimulación magnética transcraneal pretende utilizar el principio de Faraday (utilizar un campo magnético que cambia conforme al tiempo) para inducir una corriente eléctrica dentro del cerebro. Al igual que en los ejemplos descritos, la estimulación magnética transcraneal utiliza corriente eléctrica que pasa por una bobina para generar un campo magnético pulsado; el cual, a su vez, genera

una corriente eléctrica dentro del sistema nervioso central<sup>18</sup>. En la **Figura 9** se muestra un ejemplo de lo anterior.



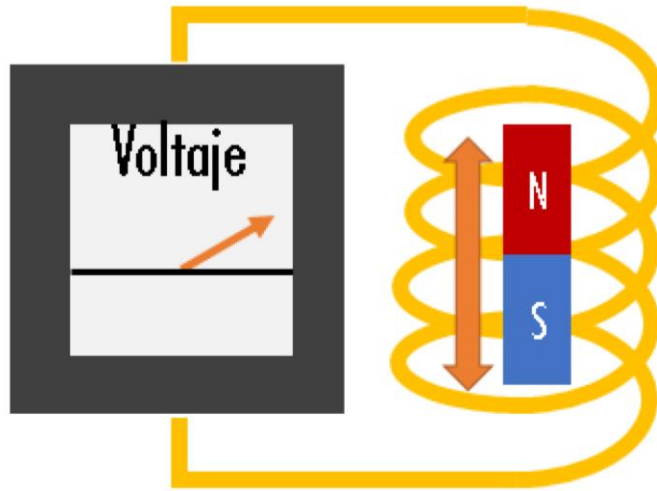
**FIGURA 6. ELECTROMAGNETO.**

En la imagen se ilustra la construcción de un electromagneto sencillo. El sistema consta de una fuente de corriente eléctrica (batería) una bobina y cables que los conectan. Cuando el circuito está abierto, no existe un campo magnético, sin embargo, cuando el circuito se cierra se crea un campo magnético alrededor de la bobina.



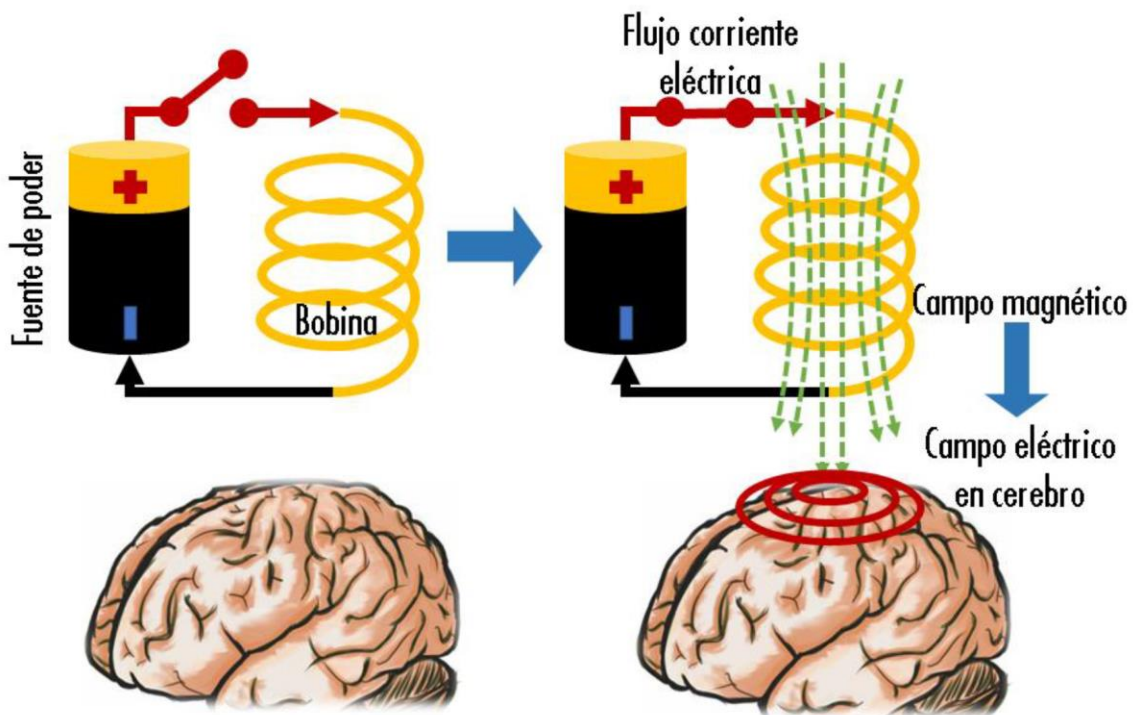
**FIGURA 7. UN CAMPO MAGNÉTICO CONSTANTE NO GENERA UNA CORRIENTE ELÉCTRICA.**

La imagen muestra que el introducir un campo magnético dentro de una bobina no genera una diferencia de voltaje. Esto se debe a que un campo magnético constante no genera corriente eléctrica.



**FIGURA 8. GENERACIÓN DE CORRIENTE ELÉCTRICA A PARTIR DE UN CAMPO MAGNÉTICO QUE CAMBIA SU MAGNITUD CONFORME AL TIEMPO.**

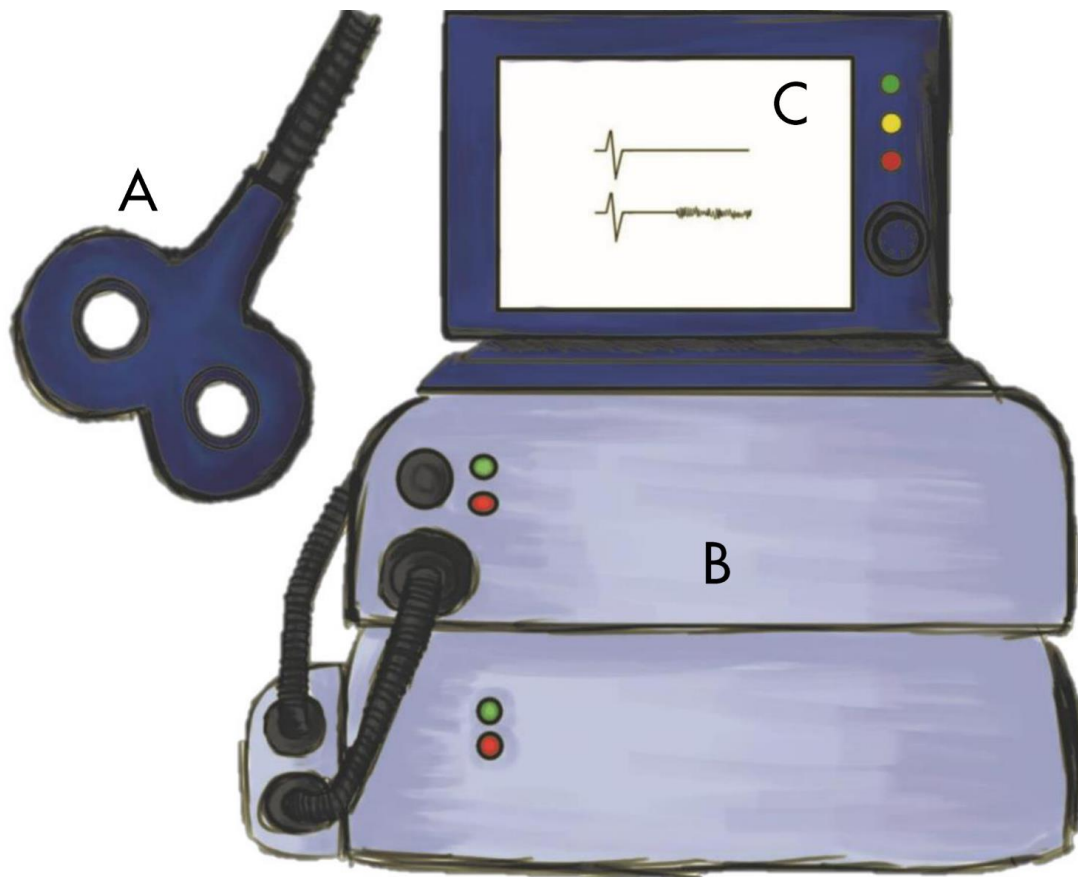
En este experimento se muestra que el mover el imán a una frecuencia dada dentro de una bobina genera una corriente eléctrica medible.



**FIGURA 9. FUNDAMENTO FÍSICO DE LA ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL.**

Se muestra una representación gráfica de los principios básicos de la estimulación magnética transcraneal. Al igual que en las Figuras anteriores, se muestra un sistema de estimulación sencillo en el cual existe una fuente de energía eléctrica (batería) conectado a una bobina. Al cerrarse el circuito, se genera un campo magnético que a su vez genera un campo eléctrico dentro del cerebro.

Los equipos de estimulación magnética transcraneal consisten en un generador de campo electromagnético y una bobina que emite este campo. Dentro del generador de campo magnético existen capacitores que almacenan una gran cantidad de corriente eléctrica para hacerla pasar rápidamente hacia la bobina<sup>18</sup>.



**FIGURA 10. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE UN EQUIPO DE ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL.** Como se menciona en el texto, el dispositivo de estimulación magnética transcraneal consta de una bobina (señalada con la letra A) y un generador de campo magnético (B). De igual forma, algunos estimuladores pueden tener una pantalla como interfaz gráfica con el usuario (C).

## ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL REPETITIVA

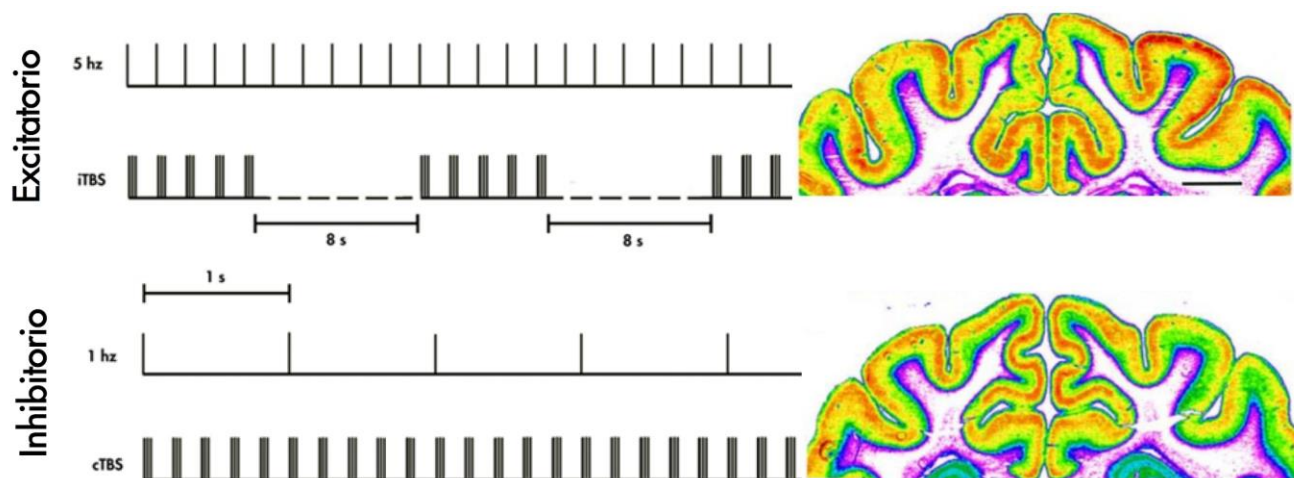
La estimulación puede darse en diversos paradigmas, ya sea en pulsos simples, pulsos pareados o repetitivos<sup>17</sup>.

El primer dispositivo creado por Barker en 1985 era únicamente capaz de dar un solo pulso magnético. Ya que el pulso subía y bajaba rápidamente de amplitud, un solo pulso también puede generar electricidad del cerebro y por tanto la despolarización de neuronas<sup>19</sup>. La demostración de que esta despolarización existe ocurre cuando se da un pulso sobre la corteza motora del cerebro, tras el cual, se genera una contracción muscular dependiente del sitio de estimulación. La estimulación sobre el área motora de la mano, genera una contracción en los músculos contralaterales de la mano, mientras que la estimulación sobre la corteza motora de la pierna, genera una contracción en los músculos contralaterales de la pierna<sup>19</sup>.

La estimulación magnética transcraneal repetitiva (rTMS por sus siglas en inglés *repetitive transcranial magnetic stimulation*) consiste en una serie de impulsos de misma intensidad con una frecuencia determinada sobre un área cortical específica. En 1991, Pascual Leone publica el primer reporte en donde la utilización rTMS sobre el área de Broca genera un arresto momentáneo de la habilidad motora para el habla<sup>20</sup>; más tarde, el mismo autor reportó que la rTMS sobre la corteza prefrontal dorsolateral izquierda tiene efecto positivo en la depresión resistente a fármacos<sup>21</sup>.

La frecuencia con la cual se aplican los estímulos sobre la corteza cerebral determinará el efecto que tendrá en la misma; las frecuencias bajas (1 Hz o un pulso por segundo) disminuyen temporalmente la excitabilidad del sitio estimulado, mientras que las frecuencias altas (más de 1 Hz o más de un pulso por segundo) aumentan temporalmente la excitabilidad. Para la estimulación a frecuencias elevadas se suele aplicar la estimulación en trenes; cada tren es un periodo donde se da un número determinado de pulsos separados por un periodo inter estímulo donde no existe estimulación<sup>22</sup>. Este cambio de la excitabilidad cortical (inhibición o excitación) se ve reflejado por un cambio metabólico que puede ser medido por medio de neuroimagen. Diversos estudios han constatado que la rTMS inhibitoria disminuye el metabolismo de la glucosa y el nivel de la señal BOLD, mientras que la rTMS excitatoria aumenta estos mismos parámetros<sup>23,24</sup>.

Además de los paradigmas antes mencionados, en la última década se han desarrollado diversas formas de aplicar estimulación denominada *Theta burst*. Estas frecuencias de estimulación fueron reportadas primeramente por Huang y cols., en el 2005<sup>25</sup> y está basado en la estimulación eléctrica que se aplica in vitro para obtener registros de potenciación a largo plazo<sup>25</sup>. Estos paradigmas de estimulación aplican pulsos de estimulación magnética transcraneal en “bursts” de 3 pulsos a 50 Hz y estos “bursts” repetidos cada 5 Hz. Esto quiere decir que cada 200 ms se aplican 3 pulsos a una frecuencia elevada (50 Hz). Este protocolo se puede aplicar de forma continua (disminuye la excitabilidad cortical) o de forma intermitente (aumenta la excitabilidad cortical)<sup>26</sup>. Existen dos tipos de estimulación tipo theta burst: la estimulación intermitente (iTBS) y la estimulación continua (cTBS). Las frecuencias y patrones de estimulación se muestran en la **Figura 11**. De igual forma, la iTBS ha mostrado aumentar el metabolismo cerebral<sup>27</sup>, mientras que la cTBS inhibirlo<sup>28</sup>. La **Figura 11** muestra los distintos tipos de frecuencias de rTMS y sus efectos en el metabolismo cerebral. La **Figura 12** muestra los efectos exclusivos de la estimulación tipo theta burst en el metabolismo cerebral.



**FIGURA 11. DISTINTAS FRECUENCIAS Y PATRONES DE ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL REPETITIVA.**

En la parte superior se muestran tipos de estimulación considerados excitatorios; las frecuencias altas (mayor a 5 Hz) y la estimulación tipo theta burst intermitente generan cambios metabólicos medidos por medio de glucosa. En la parte inferior se muestran los tipos de estimulación considerados como inhibitorios; las frecuencias bajas (menos o igual de 1 Hz) y la estimulación tipo theta burst continua disminuye el consumo de glucosa del cerebro. Imagen modificada<sup>23</sup>.

La estimulación tipo *theta burst* es menos molesta y más rápida que la estimulación magnética transcraneal repetitiva clásica. Además, los efectos adversos entre la estimulación magnética transcraneal repetitiva clásica y tipo *theta burst* no son diferentes<sup>29</sup>. Debido al largo tiempo de estimulación y a la molestia que sufren los sujetos durante el prolongado tiempo de estimulación, la tendencia actual es suplir protocolos clásicos por tipo *theta burst*<sup>30</sup>.

## **MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA TMS REPETITIVA (rTMS)**

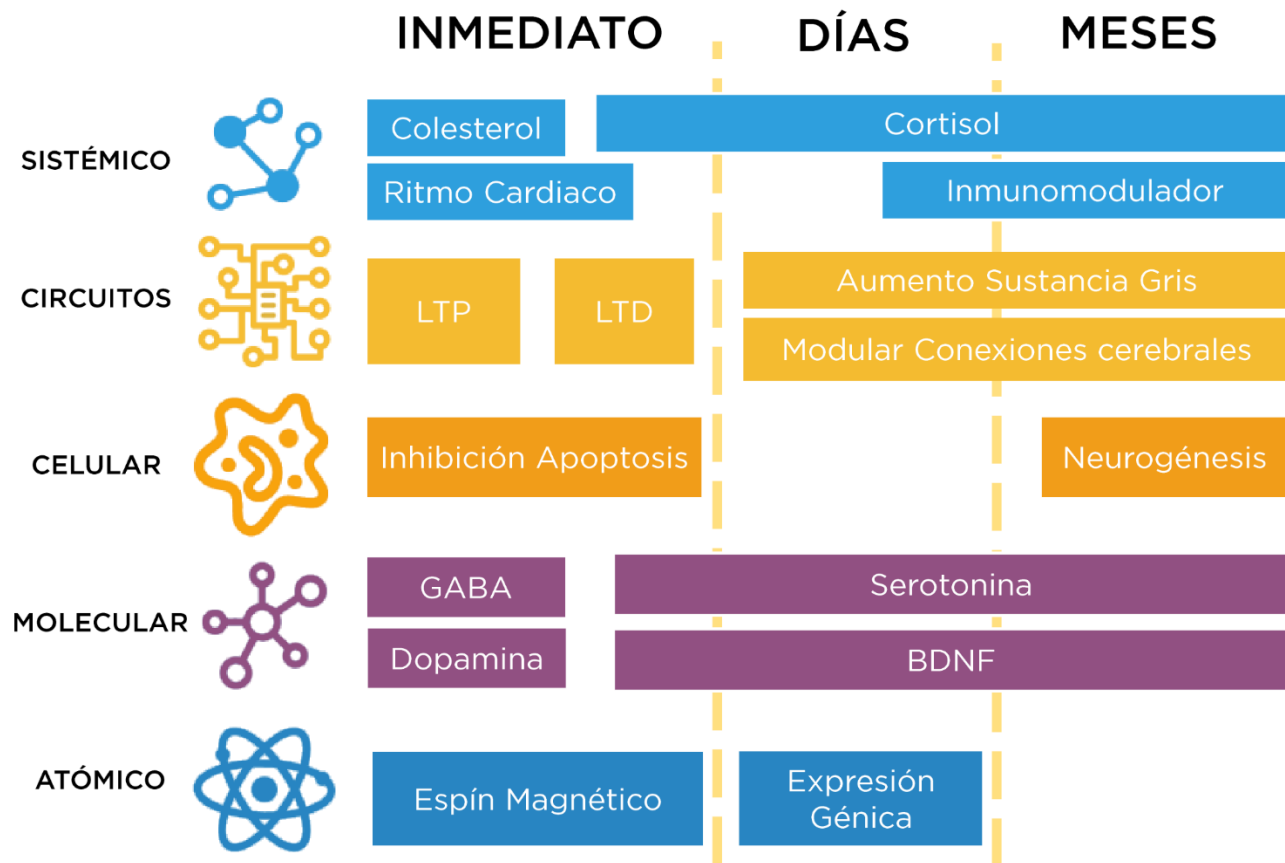
Existen diversos mecanismos de acción asociados con los cambios metabólicos de la rTMS. Estos son dados por el campo magnético y eléctrico que genera los pulsos de rTMS. Los cambios ocurren a corto y a largo plazo, sin embargo, para que se mantengan a largo plazo es necesario una estimulación crónica. La rTMS genera cambios a distintos niveles de organización de la materia, por ejemplo, a nivel subatómico y atómico, se han reportado cambios en el espín magnético de electrones y cambios en la expresión génica secundaria a la rTMS<sup>31,32</sup>. Por otra parte, a nivel molecular, se ha observado que la rTMS media sus efectos metabólicos al modificar la concentración cerebral de diversos neurotransmisores como lo son la dopamina y la serotonina<sup>33</sup>. Mientras que a nivel de circuitos neuronales, se ha observado que la rTMS modifica la plasticidad en la corteza cerebral<sup>31,32</sup>. Estos efectos dependerán, hasta cierto punto, del tipo de estimulación que se aplique al sujeto: frecuencias altas o iTBS generan efectos en la corteza similares a la potenciación a largo plazo (LTP), mientras que las frecuencias bajas o cTBS tienen efectos similares a la depresión a largo plazo (LTD)<sup>26</sup>. Este tipo de efectos, al igual que la LTP y LTD, están mediados por NMDA<sup>34</sup> y son la base para la utilización de la rTMS como método de neuromodulación para modificar la plasticidad cerebral.

Los efectos de la rTMS no son únicamente funcionales sino también anatómicos: la rTMS aplicada de manera crónica ha mostrado modificación en el tamaño de la sustancia gris debajo del área estimulada por medio de resonancia magnética de alta resolución<sup>35</sup>. Estos efectos podrían estar mediados por una mayor liberación de BDNF<sup>36</sup> reportada con rTMS y una consecuente inhibición de apoptosis y aumento de neurogénesis<sup>37</sup>.

Al estar el sistema nervioso intrínsecamente relacionado con el funcionamiento global del cuerpo, no es de extrañarse que la rTMS en el sistema nervioso pueda tener efectos sistémicos. Efectos variados como



la disminución de colesterol sérico <sup>38</sup>, cortisol<sup>39</sup> y hormonas tiroideas<sup>40</sup> han sido reportados. Los ejemplos de diversos mecanismos de acción de la rTMS se encuentran resumidos en la **Figura 12**<sup>31,32</sup>.



**FIGURA 12. MATRIZ QUE MUESTRA LOS EFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL A DIVERSOS NIVELES DE ORGANIZACIÓN Y EN DIVERSOS MOMENTOS.**

Los efectos de la rTMS pueden ser divididos de acuerdo al nivel de organización en el que ocurren y de acuerdo a cuantas sesiones de rTMS se necesitan para ocurrir. Existen efectos inmediatos que aparecen tras una sola sesión de rTMS mientras que existen otros efectos que requieren de estimulación a mediano o largo plazo para ocurrir. Esta es la base por la cual la rTMS cuando es usada de forma terapéutica requiere de un número de cuando menos 10-15 sesiones para lograr cambios a largo plazo<sup>31,32</sup>.

## INHIBICIÓN DE FUNCIONES CORTICALES POR rTMS

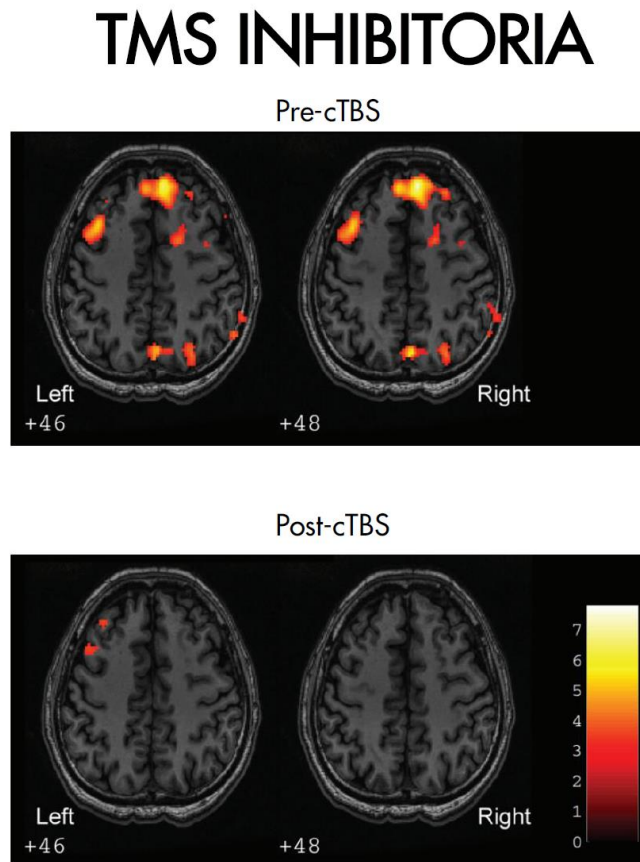
Una de las aplicaciones de la estimulación magnética transcranial en neurociencias cognitivas es el de generar una inhibición temporal cortical. Esta inhibición es reversible y temporal. Esto se logra mediante una interrupción de la excitabilidad cortical secundaria al campo electromagnético de la

rTMS. De esta forma, se puede utilizar la rTMS para complementar el conocimiento obtenido de métodos de neuroimagen. Se ha utilizado con éxito en diversas modalidades sensoriales para dilucidar la función de ciertas regiones cerebrales en el comportamiento y la percepción sensorial<sup>41</sup>. La rTMS ofrece diversas ventajas sobre otros métodos de estimulación de la corteza cerebral: permite una estimulación mucho más focalizada y anatómicamente exacta, lo que resulta ideal para estudios donde la localización anatómica de la estimulación es vital, tiene una capacidad para penetrar el cráneo de hasta 3-4 cm, es indolora y muy segura<sup>42</sup>.

Este método neurofisiológico tiene la ventaja de permitir la inferencia de causalidad entre la estimulación y el comportamiento estudiado, además de presentar innumerables ventajas frente al estudio de lesiones reales; en donde el sitio de la lesión puede ser extenso y difícil de aislar anatómicamente, produciendo dificultades para identificar las causas del comportamiento estudiado. La otra ventaja que presenta sobre lesiones reales es que no se puede establecer si los cambios neuropsicológicos medidos son debido al daño de la zona anatómica o a los cambios de plasticidad que se llevaron a cabo secundarios a la lesión inicial. La ventaja sobre estudios de neuroimagen funcional es la misma: es imposible determinar o inferir causalidad a partir de estudios de neuroimagen, pues estos nos hablan de la correlación entre un comportamiento y el incremento de la actividad de una zona anatómica determinada<sup>43</sup>. Para superar el problema de correlación, los protocolos de inhibición temporal se realizan de manera tal que se puede evaluar el efecto de la intervención en la conducta, es decir, se evalúa al sujeto antes y después de la intervención para identificar el cambio conductual, por lo cual se puede construir una línea de tiempo causal. De igual manera, los protocolos de inhibición temporal se pueden realizar en sujetos sanos, con lo que las variables confusoras intrínsecas a sujetos con daño neuronal son eliminadas<sup>44</sup>.

Existe una gran cantidad de literatura que soporta la utilización de cTBS como medio para inhibir funciones cognitivas corticales, específicamente funciones ejecutivas frontales<sup>45</sup>. Un meta análisis del 2018, que junta los resultados de 32 estudios con 759 sujetos, muestra que la estimulación con cTBS en áreas frontales genera un efecto negativo en las funciones ejecutivas de seres humanos<sup>45</sup>. Esta capacidad de la cTBS para inhibir funciones corticales también ha sido demostrada en otro meta

análisis de los efectos de la cTBS en el sistema motor<sup>46</sup> y estudios de neuroimagen <sup>47</sup>. En la **Figura 13** se muestran los efectos metabólicos de la cTBS.



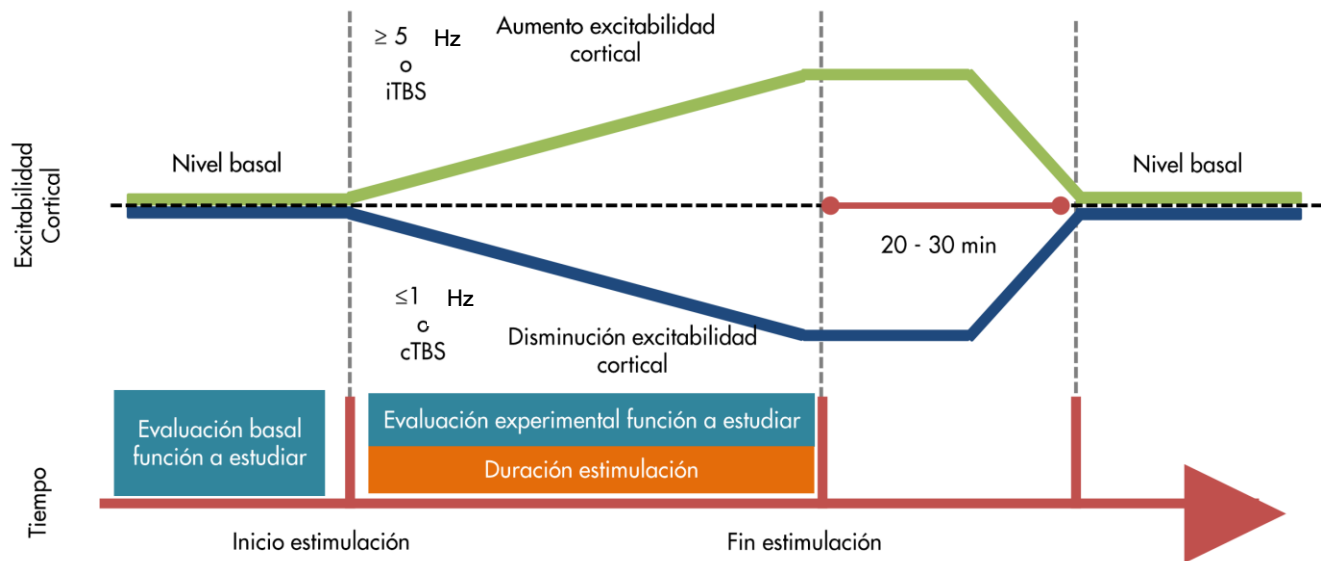
**FIGURA 13. EJEMPLOS DE LOS CAMBIOS METABÓLICOS ESPERADOS LA CTBS.**

En el caso de la cTBS se muestra la resonancia magnética funcional de un sujeto con trastorno obsesivo compulsivo. En este trastorno, existe un metabolismo aumentado en la corteza orbitofrontal y prefrontal; tras sesiones de cTBS se aprecia una disminución del metabolismo en la región frontal que correlaciona con una mejoría clínica<sup>47</sup>.

## **PARADIGMAS EXPERIMENTALES PARA NEUROCIENCIAS COGNITIVAS CON RTMS**

Al poder establecer una relación temporal entre una parte de la corteza cerebral y una función cognitiva específica, no es sorpresa que la TMS sea una poderosa herramienta en las neurociencias cognitivas. En general, existen dos tipos de experimento con rTMS para evaluar funciones cognitivas: los experimentos tipo “on-line” y tipo “off-line”.

El paradigma on-line hace uso de la capacidad que tiene la TMS simple o repetitiva para disrumpir por un periodo de tiempo corto la actividad de la corteza cerebral. De esta forma, los experimentos realizan una medición basal de la función a evaluar, posteriormente realizan una segunda evaluación de la función a evaluar mientras la persona recibe rTMS y posteriormente compara los efectos entre la evaluación basal y durante la estimulación. La premisa bajo este tipo de experimentos es que la rTMS disrumpirá la actividad de la corteza a estudiar y esto generará un efecto conductual medible por la prueba cognitiva<sup>48</sup>. Un ejemplo de un experimento on-line se encuentra en la **Figura 14**.



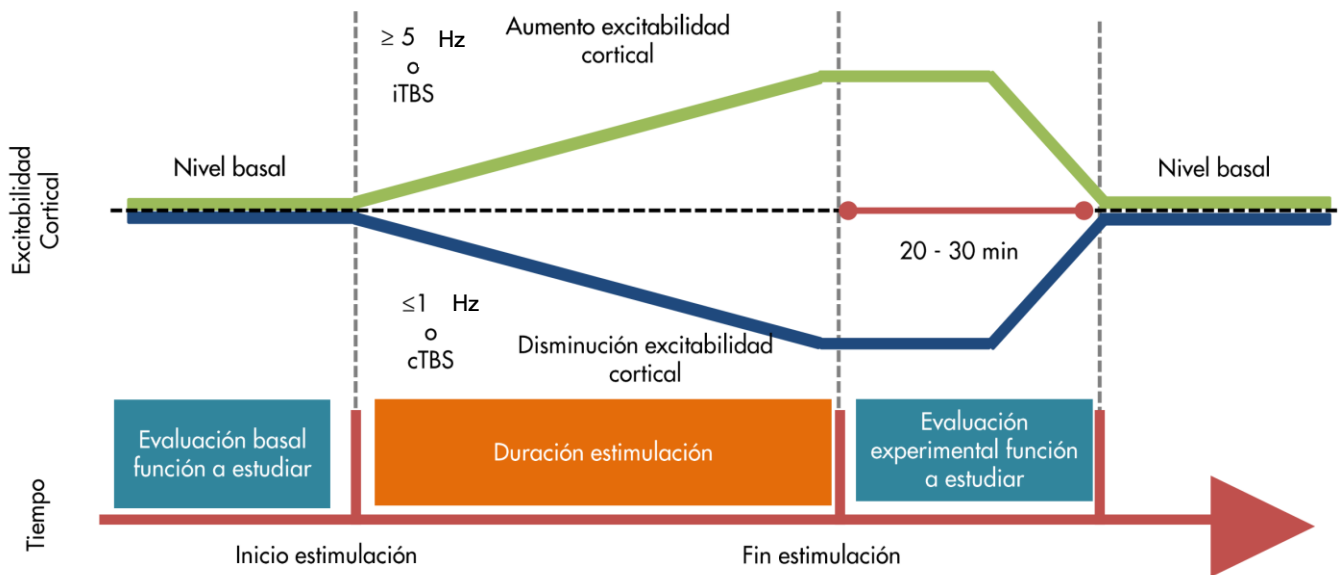
**FIGURA 14. DESCRIPCIÓN DE UN EXPERIMENTO ON-LINE.**

Se muestra un experimento on-line típico, en el que se realiza una evaluación basal de la función a estudiar y posteriormente se prosigue a aplicar la rTMS. Nótese que la estimulación magnética transcranial es aplicada al mismo tiempo que la evaluación experimental de la función a estudiar<sup>48</sup>.

La principal desventaja de los paradigmas on-line es que los estudios de neuroimagen únicamente muestran los efectos inmediatos y a corto plazo de la rTMS en el metabolismo cerebral. En consecuencia, la mayoría de los estudios en los que se realiza el método de neuroimagen durante la rTMS muestran que, sin importar la frecuencia de estimulación, existe un aumento del metabolismo cerebral durante el tiempo que dure rTMS<sup>23</sup>. Por lo tanto, sólo se observan cambios transitorios,

afectando la reproducibilidad y las inferencias que se pueden realizar sobre el metabolismo y la función cerebrales.

Por otra parte, el paradigma “off-line” hace uso del bien conocido *after-effect* en la excitabilidad cerebral tras la rTMS. La rTMS genera cambios conductuales<sup>49</sup>, de excitabilidad<sup>26</sup> y de neuroimagen<sup>50</sup> que perduran por al menos 30 min tras finalizar la estimulación. Después de estos primeros 30 min post-estimulación, la excitabilidad cortical se normaliza. Al contrario de los efectos disruptivos inmediatos, los efectos metabólicos en esta ventana de tiempo se encuentran bien descritos por lo que se puede inducir que un aumento o disminución de la excitabilidad es el responsable de los cambios conductuales observados<sup>23</sup>. El experimento típico off-line incluye una medición basal de la función a medir, la aplicación de rTMS y una evaluación final de la función tras la rTMS<sup>48</sup>. Un ejemplo de este tipo de experimentos se encuentra en la **Figura 15**.



**FIGURA 15. DESCRIPCIÓN DE UN EXPERIMENTO OFF-LINE.**

Se muestra un experimento off-line típico, en el que se realiza una evaluación basal de la función a estudiar y posteriormente se prosigue a aplicar la rTMS. Nótese que la evaluación experimental de la función a estudiar es aplicada en el periodo conocido como *after-effect* en el cual la excitabilidad cortical se encuentra modificada por la rTMS. Tras 30 min de estimulación la excitabilidad cortical regresa a la normalidad por lo que se debe realizar la evaluación experimental en esta ventana de tiempo<sup>48</sup>.

En general, todos los experimentos de inhibición temporal cortical utilizando rTMS tienen que usar diversos controles. Primero, se debe tomar un control a la estimulación; para lograrlo, generalmente se usan bobinas falsas que imitan el sonido que realiza una bobina real, pero sin evocar el campo electromagnético que una bobina normal realizaría, a este método se le llama "sham TMS". Aunque muy utilizado, tiene inconvenientes como la incapacidad de emitir la sensación específica que los sujetos describen tras recibir TMS o no poder provocar la contracción muscular que puede suceder en los músculos por debajo de la bobina. El otro método utilizado es dar estimulación magnética transcraneal, pero en un sitio sin relevancia fisiológica a la que queremos estudiar. En este último método se debe ser cuidadoso de no estimular ningún área que pueda tener relación con el área a estimular. La última forma de enmascarar la aplicación de rTMS es cambiar el ángulo de estimulación para así no estimular ningún área cerebral<sup>48,51</sup>.

Al estimular el área motora, evidenciamos con facilidad que la estimulación fue exitosa (movimiento de la mano, en caso de pulsos simples), sin embargo, al estimular otras áreas corticales no es tan sencillo determinar si la estimulación fue efectiva o no. Debido a esto, se han desarrollado diversas formas de controlar esta deficiencia metodológica, la primera es utilizar un método de neuroimagen que nos permita observar cambios en el metabolismo cerebral tras la aplicación de la estimulación magnética transcraneal. Este método, aunque efectivo y muy sensible para observar cambios, plantea un gasto elevado además de dificultades metodológicas pues requiere que los experimentos se realicen dentro de un resonador magnético funcional. Otra opción para controlar si la estimulación tuvo algún efecto sobre el cerebro es realizar pruebas neuropsicológicas que estén relacionados con el área estimulada; de esta forma, si existe una alteración en el desempeño de estas pruebas neuropsicológicas, se puede inferir que la estimulación magnética transcraneal tuvo algún efecto sobre la corteza en cuestión<sup>48</sup>.

Se pueden utilizar los datos anatómicos de la resonancia magnética del encéfalo de un sujeto para dirigir la estimulación; este método es llamado estimulación dirigida por neuro navegación. Este método ofrece la mejor resolución espacial posible, pues elimina las posibles variables anatómicas inter sujeto y personaliza la estimulación para así asegurarnos que la zona estimulada es la deseada. Para llevar a cabo este método se utiliza una cámara especial que registra diversos puntos anatómicos del sujeto, la ubicación de la bobina de estimulación, la información anatómica de la resonancia y los

combina para posteriormente hacer saber al experimentador cuando la bobina se encuentra sobre la zona a estimular<sup>52</sup>. Existen otras formas de neuro navegación —aparte de la guiada por resonancia magnética— que se han utilizado de igual manera, entre ellas se encuentran las coordenadas de tailarach y la zona de colocación de electrodos de electroencefalograma como formas de colocar la bobina al realizar la estimulación.

## **LA RTMS COMO HERRAMIENTA DE ESTUDIO PARA LA CONSCIENCIA**

Como se mencionó anteriormente, se pueden utilizar estudios de neuroimagen para encontrar los correlatos neurológicos de la consciencia. Sin embargo, estos métodos tienen una limitante temporal importante (fMRI y PET) o una resolución espacial limitada (EEG y MEG). Por medio de estos métodos es imposible establecer si la actividad de un área cerebral es necesaria para que se lleve a cabo una experiencia consciente. La estimulación magnética transcraneal ofrece una herramienta poderosa pues sus efectos sobre la corteza cerebral nos pueden permitir modificar la experiencia consciente. Uno de los ejemplos más claros es la utilización de TMS sobre la corteza visual para crear experiencias visuales denominadas fosfenos. Estas experiencias no son medibles y son autorreportadas por el sujeto tras la estimulación en la corteza visual<sup>53</sup>. De igual forma, al modificar la intensidad y frecuencia del pulso magnético se puede generar una disrupción temporal de la actividad de la corteza que genera un escotoma en el campo visual<sup>54</sup>.

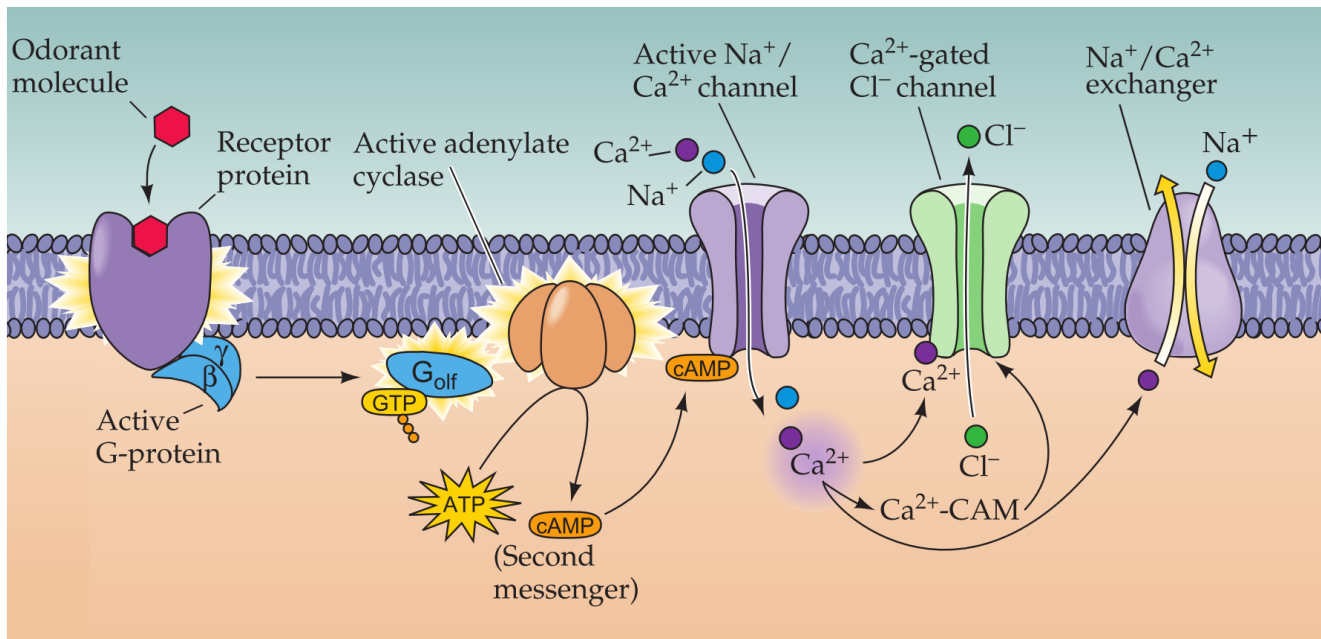
La TMS ha permitido establecer que ciertas áreas cerebrales, previamente correlacionadas por medio de neuroimagen con algún tipo de percepción consciente sensorial, no solamente correlacionan con el área, sino que son de cierta forma necesarias para que se lleve a cabo la percepción consciente<sup>2</sup>. Algunas áreas cerebrales en donde la rTMS ha sido efectiva para determinar si el área es necesaria para que ocurra una percepción consciente son V5 para la percepción movimiento<sup>13</sup> y V5/Mt para el color<sup>55</sup>.

## CAPÍTULO III. SISTEMA OLFATORIO

El sentido del olfato es un sistema sensorial que permite navegar el ambiente por medio de la percepción química del mismo. Se trata además de uno de los sistemas sensoriales más antiguos filogenéticamente: los vertebrados más antiguos que comparten receptores olfatorios con los seres humanos divergieron de nuestros ancestros hace aproximadamente 700 millones de años<sup>56</sup>. Aunque no tan agudo como en otros mamíferos, los seres humanos pueden detectar alrededor de 10 mil químicos volátiles diferentes<sup>57</sup>.

A diferencia de otros sentidos donde basta una pequeña cantidad de receptores para captar una amplia gama de percepciones sensoriales (p. ej., el sistema visual), el sentido del olfato basa su agudeza en la expresión periférica de receptores para distintos odorantes en lugar de una compleja integración de estímulos a nivel central. Los seres humanos cuentan con alrededor de 350 receptores para odorantes diferentes; cuenta con 390 genes funcionales y 465 pseudogenes, lo que convierte a los receptores olfatorios en la superfamilia de genes más grande del genoma humano<sup>58</sup>. La unión de un odorante a este receptor induce una cascada intracelular de eventos que incluye la activación de adenilato ciclasa, el incremento de la concentración intracelular del adenosín monofosfato cíclico (AMPC) y la posterior entrada de calcio que despolariza la neurona olfatoria sensorial causando un potencial de acción que es transmitido hacia el bulbo olfatorio. Cada neurona olfatoria sensorial expresa solo un tipo de receptor mientras que cada receptor reconoce múltiples odorantes. Cada odorante puede activar múltiples receptores; por tanto, cada odorante activa un patrón único de receptores y de esta forma cada odorante manda una señal específica al cerebro<sup>59</sup>. La estructura de los receptores es la de un receptor acoplado a la proteína G y la sensibilidad a los diversos odorantes está determinada por cambios en la secuencia de aminoácidos<sup>60</sup>. En la **Figura 16** se muestra un esquema que ilustra la unión de odorantes a sus receptores y la posterior cascada que se activa.





**FIGURA 16. CASCADA DESENCADENADA POR LA UNIÓN DE UN ODORANTE A SU RECEPTOR EN LA MEMBRANA DE UNA NEURONA DEL EPITELIO OLFATORIO.**

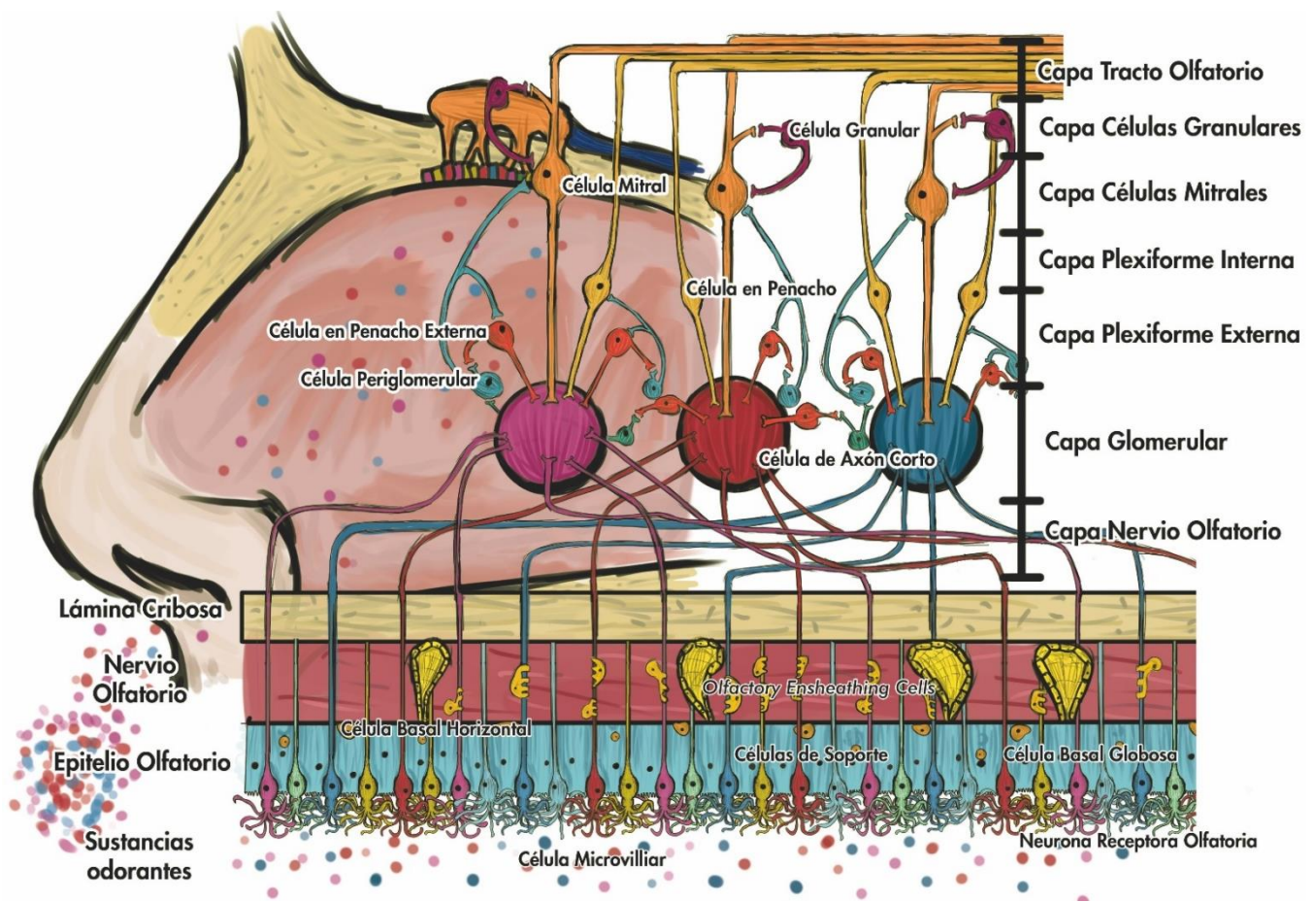
El odorante se une a un receptor que está asociado a una proteína G; la activación del receptor conlleva a un aumento incremento de la actividad del adenilato ciclasa, lo que aumenta la concentración de AMPc. Este, a su vez, activa canales dependientes de calcio y sodio dependientes de AMPc lo que termina en un potencial postsináptico excitatorio y posteriormente un potencial de acción<sup>61</sup>. AMPc, adenosín monofosfato cíclico.

## VÍA OLFATORIA

### EPITELIO OLFATORIO

En la olfacción ortonasal, aquella que se lleva a cabo por la nariz, los odorantes son detectados por neuronas olfatorias sensoriales localizadas en el epitelio olfatorio; este epitelio recubre aproximadamente 5 cm<sup>2</sup> de la superficie de la cavidad nasal y se encuentra en la zona posterior del mismo. A diferencia de la mayoría de las neuronas del sistema nervioso, las neuronas que recubren este epitelio se recambian constantemente (aproximadamente cada 30 días). Las dendritas de estas neuronas se dirigen hacia la superficie epitelial donde se ramifican en numerosos cilios en donde se ubican los receptores para los odorantes. En la parte profunda del epitelio, los axones de estas neuronas atraviesan la lámina cribosa y hacen sinapsis en el bulbo olfatorio<sup>62</sup>.

Además de las neuronas del epitelio olfatorio, este epitelio tiene una gran cantidad de células con funciones diversas y complejas. Las células basales son células progenitoras que dan pie a nuevas neuronas del epitelio olfatorio y se encuentran en la base del mismo; se han identificado dos tipos morfológicos diferentes células basales: globosas y basales. Otro tipo de células importantes en el epitelio olfatorio son las células de soporte; estas células se encuentran en contacto directo con neuronas del epitelio olfatorio y se cree que tienen un rol parecido al de la glía en el sistema nervioso central. De igual forma, existen células denominadas microvillarias que son muy similares morfológicamente a las neuronas del epitelio olfatorio; se desconoce su función. Por último, el axón de las neuronas del epitelio olfatorio se recubre por un tipo especial de glia denominado “*olfactory ensheathing cell*”; estas células son embriológicamente muy similares a las células de Schwann ya que ambas derivan de las crestas neurales<sup>63</sup>. En la **Figura 17** se pueden observar las células ya descritas.



## **FIGURA 17. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LOS DIVERSOS TIPOS DE CÉLULAS QUE EXISTEN EN EL EPITELIO Y BULBO OLFATORIO.**

El epitelio olfatorio se encuentra en la parte posterior de la cavidad nasal; está compuesto por una capa de neuronas del epitelio olfatorio que se acompaña de células microvillarias y más profundamente células basales. El axón de las neuronas del epitelio olfatorio se encuentra recubierto por “*olfactory ensheathing cells*”, análogas a las células de Schwann. En la parte superior de la imagen se muestra una representación de las células y capas que se encuentran en el bulbo olfatorio. La capa del nervio olfatoria únicamente contiene axones de neuronas del epitelio olfatorio, la capa glomerular contiene las sinapsis entre las neuronas del epitelio olfatorio y células mitrales. La capa plexiforme externa contiene los cuerpos neuronales de células en penacho y la capa mitral tiene los cuerpos neuronales de las células mitrales<sup>63</sup>.

### **BULBO OLFATORIO**

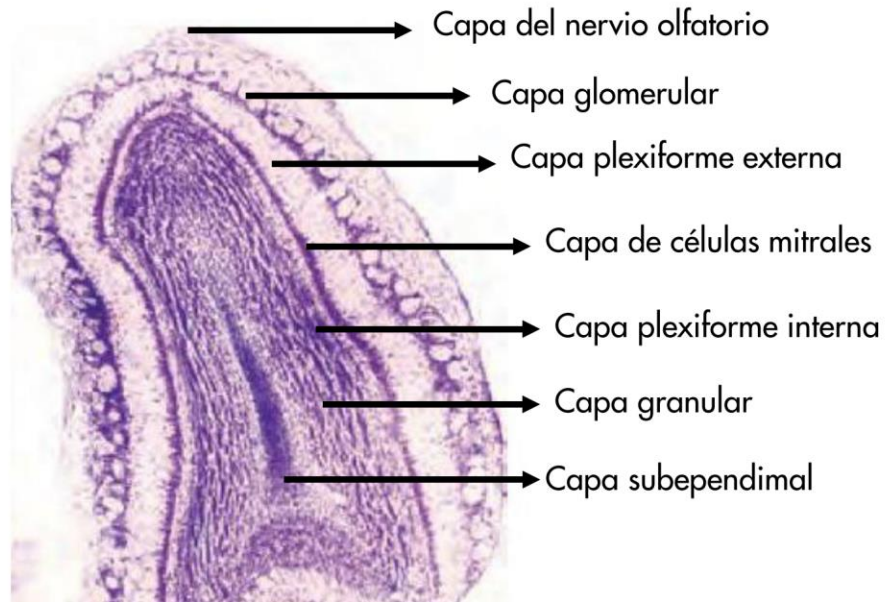
Los axones de las neuronas olfatorias sensoriales del epitelio olfatorio se proyectan al bulbo olfatorio ipsilateral. Para llegar al bulbo olfatorio, los axones tienen que atravesar tejido conectivo y la lámina cribosa del cráneo. El bulbo olfatorio es una estructura macroscópica ovalada que se encuentra rostral en la mayoría de los mamíferos y justo debajo del lóbulo frontal en los seres humanos. Histológicamente, el bulbo olfatorio cuenta con diversas capas, a continuación se enumeran de la más externa a la más interna<sup>63</sup>:

- **Capa del nervio olfatorio:** Se trata de la capa más externa del bulbo olfatorio, consta únicamente de los axones de las neuronas del epitelio olfatorio<sup>63</sup>.
- **Capa glomerular:** Es la segunda capa del bulbo olfatorio. En esta capa se ubican unas estructuras denominadas glomérulos, las cuales están formadas por la sinapsis de los axones de las neuronas del epitelio olfatorio con dendritas de células mitrales y células en penacho. Los glomérulos se consideran como la unidad fundamental del procesamiento olfatorio: cada glomérulo incluye las dendritas de 25 células mitrales las cuáles reciben aferencias de 25 mil axones de neuronas del epitelio olfatorio. Esta convergencia ayuda a incrementar la sensibilidad de las células mitrales y asegurar la detección olfatoria. Las aferencias a cada glomérulo son generadas por neuronas de una sola población homogénea de neuronas que expresan el mismo receptor para odorantes. Ya que cada odorante estimula una serie de receptores específicos,

cada odorante activa una particular serie de glomérulos en el bulbo olfatorio. Cada glomérulo se encuentra rodeado por una serie de interneuronas periglomerulares y células granulares que tienen un rol en la modulación de señales a través de la facilitación e inhibición de sinapsis<sup>64</sup>.

- **Capa plexiforme externa:** La población neuronal más abundante de la capa plexiforme interna son las células en penacho. Las dendritas de estas células, al igual que las de las células mitrales, hacen sinapsis con los axones de neuronas del epitelio olfatorio en el glomérulo<sup>63</sup>.
- **Capa de células mitrales:** Esta capa se caracteriza por tener una gran cantidad de cuerpos neuronales de células mitrales. Como se mencionó anteriormente, las dendritas de estas neuronas hacen sinapsis con axones del epitelio olfatorio en el glomérulo<sup>63</sup>.
- **Capa plexiforme interna:** Contiene los axones de las células en penacho y las células mitrales<sup>63</sup>.
- **Capa granular:** Contiene una gran cantidad de células granulares. Estas células no tienen axon pero hacen conexión por medio de dendritas con dendritas secundarias de células mitrales y células en penacho. Su principal rol es de modulación de las señales<sup>63</sup>.
- **Capa subependimal:** La capa subependimaria es una capa de células progenitoras remanentes del desarrollo embriológico. En momentos tempranos de la ontología, da lugar a nuevas neuronas del bulbo olfatorio mientras que en el adulto estas neuronas provienen de la corriente migratoria rostral<sup>63</sup>.

Detalles sobre la organización del bulbo olfatorio y la histología de este se encuentran en la **Figura 17** y **Figura 18** respectivamente.



**FIGURA 18. CORTE CORONAL DE UN BULBO OLFATORIO CON LAS CAPAS DEL MISMO.**

La capa del nervio olfatoria únicamente contiene axones de neuronas del epitelio olfatorio, la capa glomerular contiene las sinapsis entre las neuronas del epitelio olfatorio y células mitrales. La capa plexiforme externa contiene los cuerpos neuronales de células en penacho y la capa mitral tiene los cuerpos neuronales de las células mitrales<sup>63</sup>.

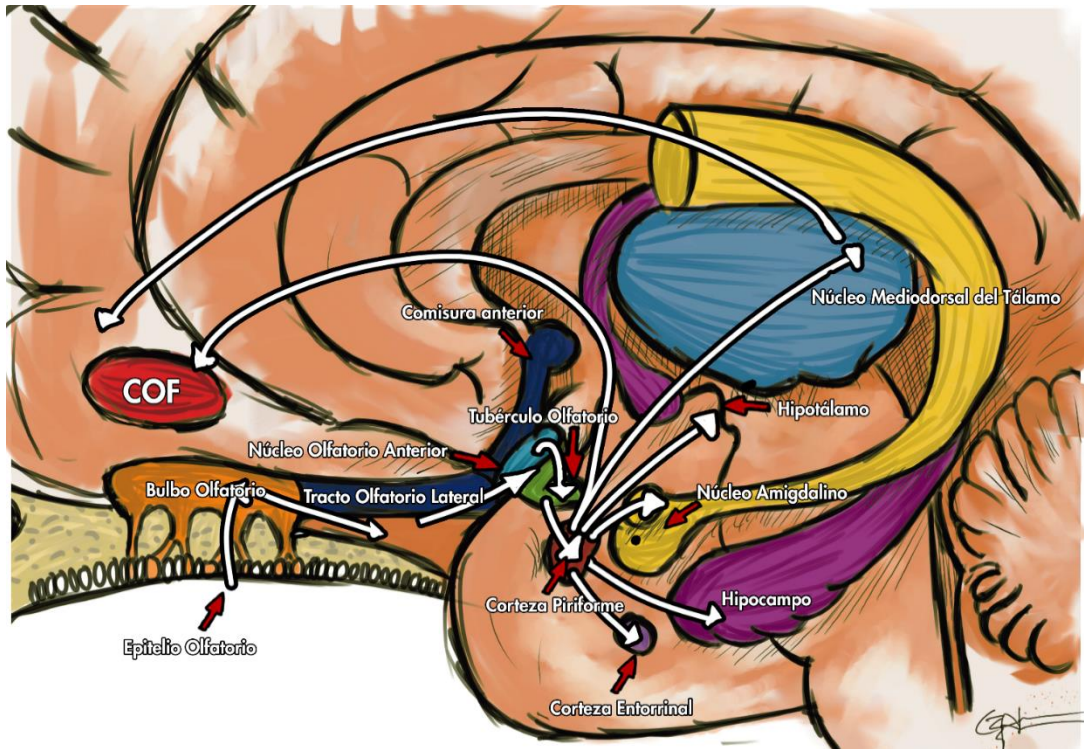
Respecto al rol del bulbo olfatorio, en este se generan mapas de activación dependientes de cada estímulo químico, odorantes similares generan patrones de activación en los glomérulos similares. No parece tener un rol directo en la percepción consciente de estímulos olfatorios: hay evidencia experimental y de neuroimagen que pueden existir experiencias subjetivas olfatorias endógenas (memorias, alucinaciones, imaginación olfatoria, etc.) sin la necesidad de la integridad o inclusive existencia de los bulbos olfatorios<sup>65,66</sup>.

### CORTEZA OLFATORIA PRIMARIA

Del bulbo olfatorio, las células mitrales y las células en penacho proyectan sus axones a diversas áreas del cerebro, estos axones forman el tracto olfatorio lateral. La corteza olfatoria primaria se define como la porción de la corteza que recibe proyecciones directamente del bulbo olfatorio y se compone de los núcleos olfatorios anteriores, el núcleo anterior y posterior de la amígdala, el tubérculo olfatorio,

corteza periamigdaloides, parte de la corteza entorrinal y la corteza piriforme<sup>61</sup>. A diferencia de otras modalidades sensoriales como la visión y la audición, la corteza primaria del olfato es parte de la paleocorteza (solo contiene 3 capas de neuronas) y no de la neocorteza (la cual contiene 6 capas de neuronas).

La corteza piriforme es la parte de la corteza olfatoria primaria mejor estudiada y más importante; se cree que entre sus funciones puede estar la recuperación de memorias olfatorias, aprendizaje de estímulos olfatorios y otras funciones asociativas; se ha visto que la adquisición de olores genera plasticidad en la corteza piriforme posterior<sup>67</sup>. Otra función asociada a la corteza piriforme es la estabilidad y generalización que suele hacerse sobre diversos odorantes, este fenómeno ocurre cuando diversos odorantes químicamente heterogéneos son generalizados en una categoría de odorantes (olor a jabón, a flores, a podrido, etc.)<sup>68</sup>. No existen casos reportados en la literatura donde un daño focal a la corteza piriforme haya resultado en anosmia<sup>69</sup>. En la literatura de modelos animales existen reportes en los cuales la ablación de la corteza piriforme no impidió a ratas discriminar entre estímulos odorantes sencillos<sup>70</sup>.



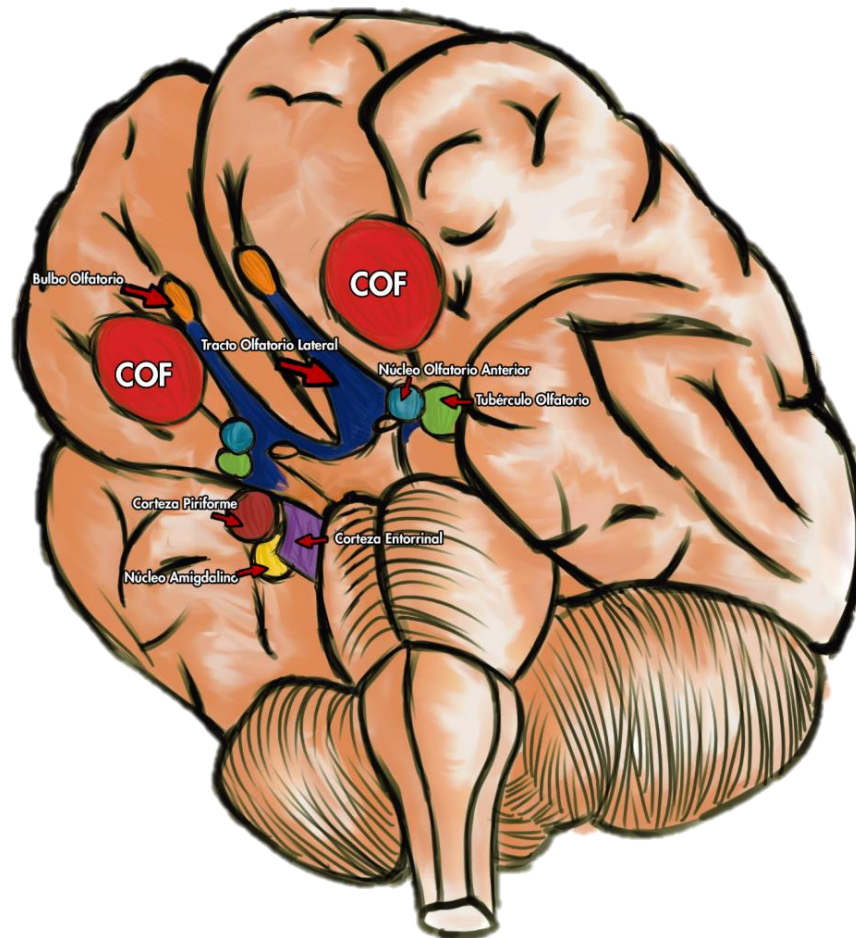
**FIGURA 19. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA VÍA OLFATORIA.**

En esta imagen se ilustra los diversos nodos importantes de la vía olfatoria. Esta vía comienza en las neuronas del epitelio olfatorio las cuáles proyectan sus axones al bulbo olfatorio ipsilateral. Del bulbo olfatorio surge el tracto olfatorio lateral el cual va dejando eferencias en la corteza olfatoria primaria (tubérculo olfatorio, núcleo olfatorio anterior, corteza piriforme y corteza entorrinal). En el ser humano, la mayoría de las eferencias del bulbo olfatorio llegan a la corteza piriforme. De la corteza piriforme la vía se bifurca a una vía directa que no hace relevo en el tálamo y va directamente a la corteza orbitofrontal y una vía indirecta que va primero hacia el núcleo medio dorsal del tálamo y posteriormente a la corteza orbitofrontal<sup>63</sup>.

## CORTEZA OLFATORIA SECUNDARIA

Las neuronas piramidales de la corteza piriforme transmiten información a dos vías principales. La primera vía lleva información a la corteza orbitofrontal (COF) de forma directa y de forma indirecta a través del núcleo medio dorsal del tálamo<sup>71</sup>. Sobre la función de la vía indirecta a la COF que pasa por el núcleo medio dorsal del tálamo, se induce que su principal función es la mediación de atención olfatoria<sup>72</sup>, ya que es importante en la discriminación olfatoria e identificación de estímulos odorantes<sup>73</sup>. La segunda vía lleva eferencias hacia el hipotálamo lateral donde hay evidencia para afirmar que

regula del apetito y hacia otras partes de la amígdala donde modula funciones reproductivas<sup>74</sup>. Es esta COF la cual parece ser la estructura más importante para que los seres humanos experimenten percepción consciente de estímulos odorantes<sup>75</sup>. En la **Figura 19** y **Figura 20** se hace un recuento de las diversas estructuras que componen el sistema olfatorio.



**FIGURA 20. ÁREAS OLFATORIAS VISTAS DESDE LA SUPERFICIE DEL SISTEMA NERVIOSO.**

La imagen muestra una vista inferior y lateral del encéfalo y de las áreas olfatorias que se pueden apreciar desde la superficie<sup>63</sup>.

## **DISFUNCIÓN OLFATORIA Y MODIFICACIÓN DEL OLFATO**

Existen ciertos factores que modifican la olfacción. Se ha encontrado que existe una relación inversamente proporcional entre la edad y la agudeza olfatoria, esto se debe a la disminución en el recambio de las neuronas sensoriales del epitelio olfatorio<sup>76</sup>. No existe cambio en la capacidad para



discriminar estímulos odorantes con respecto a la hora del día<sup>77</sup>. En la población de la Ciudad de México, se sabe que su capacidad olfatoria se encuentra relativamente disminuida con respecto a la de otras poblaciones con menos contaminación<sup>78</sup>.

Existe una gran cantidad de trastornos olfatorios que pueden modificar la agudeza olfatoria<sup>79</sup>:

- Anosmia: Incapacidad para detectar olores.
- Hiposmia: Capacidad para detectar olores disminuida.
- Disosmia: Capacidad para detectar olores disminuida.
- Fantosmia: Percepción de un olor sin la presencia de un estímulo odorante.
- Parosmia: Percepción alterada de un olor en la presencia de un olor usualmente desagradable.
- Agnosia olfatoria: Incapacidad para clasificar o contrastar olores, la detección no está alterada.

Los trastornos olfatorios antes descritos se pueden deber a diversas fisiopatologías y etiologías, las cuales se resumen en la tabla 1:

**TABLA 1. MECANISMOS Y ETIOLOGÍAS DE LA DISFUNCIÓN OLFATORIA.**

Mecanismo	Etiologías
Defectos de conducción aérea	Procesos inflamatorios que causen oclusión de las vías respiratorias altas: sinusitis y rinitis <sup>80,81</sup> .
	Procesos neoplásicos que bloqueen la cavidad nasal previniendo el flujo de odorantes al epitelio olfatorio: pólipos, tumores nasales, etc <sup>82</sup> .
	Enfermedades del desarrollo que puedan evitar el paso de odorantes al epitelio olfatorio: encefaloceles, quiste dermoide, etc <sup>83</sup> .
	Personas con traqueotomías o laringectomías pueden presentar hiposmia por falta de flujo de aire por la cavidad nasal <sup>84</sup> .
Daño en estructuras olfatorias	Enfermedades infecciosas e inflamatorias crónicas que generan daño irreversible en el epitelio olfatorio <sup>81</sup> .
	Traumatismo craneoencefálico, neurocirugía o hemorragias subaracnoideas pueden dañar tanto estructuras periféricas importantes para la olfacción, así como estructuras dentro del encéfalo importantes para la olfacción <sup>85</sup> .
	Síndromes congénitos como el síndrome de Kallmann. Este se caracteriza por una falla en la ontogénesis de las estructuras olfatorias e hipogonadismo hipogonadotrópico <sup>86</sup> .
	Toxicidad por drogas inhaladas (cocaína) o de aplicación sistémica (aminoglucósidos) <sup>87</sup> . Algunos solventes orgánicos y la aplicación directa sobre la cavidad nasal de sales de zinc también pueden afectar el sentido del olfato <sup>88</sup> .
Otros	Trastornos neuropsiquiátricos como depresión, esquizofrenia y trastorno bipolar han sido ligados a hiposmia <sup>89</sup> .
	Enfermedades neurodegenerativas como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple y enfermedades de las neuronas motoras han sido asociadas con hiposmia <sup>90</sup> .
	Sujetos con síndrome de Down presentan comúnmente trastornos de la olfacción <sup>91</sup> .
	Alteraciones endócrinas como hipotiroidismo, hipoadrenalismo, diabetes mellitus pueden afectar la olfacción <sup>92</sup> .
	Radioterapia y quimioterapia en sujetos con cáncer <sup>93</sup> .

## VALORACIÓN DE LA CAPACIDAD OLFATORIA

Existen dos formas clásicas de evaluar el olfato en seres humanos: la evaluación clínica, que se realiza en el ámbito de la medicina, y la evaluación psicológica, denominada psicofísica.

### VALORACIÓN CLÍNICA

La valoración clínica es aquella que se utiliza comúnmente en el ámbito médico. Normalmente consiste en una valoración gruesa de la capacidad olfatoria de los sujetos; para lograr lo anterior se suele presentar odorantes conocidos para los sujetos y se le pide a los mismos que los identifiquen<sup>94</sup>. La pérdida olfatoria también es un indicador temprano de la aparición de enfermedades neurodegenerativas, específicamente de la enfermedad de Parkinson y de la enfermedad de Alzheimer<sup>95-97</sup>. Ambas enfermedades son neurodegenerativas y su prevalencia las hace las más comunes a nivel mundial, por lo que representan una parte importante de la morbilidad en sujetos mayores de 65 años<sup>98</sup>. En el caso de la enfermedad de Parkinson, la pérdida de olfato precede los síntomas motores de la enfermedad con por lo menos 10 años; por lo que el seguimiento de sujetos con pérdida olfatoria permitiría un diagnóstico más oportuno y la utilización de medidas de neuro protección en estos sujetos<sup>99</sup>.

### VALORACIÓN PSICOFÍSICA

Dentro de la psicofísica olfatoria se encuentran cualquier procedimiento que provea una medida cuantitativa de la función sensorial que requiere una respuestas verbal o consciente por parte del examinado<sup>63</sup>.

Estas pruebas estudian alguno de los cuatro aspectos de la olfacción humana:

- **Umbral de detección olfatoria:** evalúa la menor concentración de odorante que puede ser identificada. Dos de los tipos de procedimientos para calcular umbrales que han recibido más utilización clínica e industrial son el método ascendente de límites y el de la escalera única. En el primero, odorantes son presentados secuencialmente de una baja a una alta concentración hasta que se da un punto de transición entre la detección y la no detección por parte del sujeto examinado. En el método de la escalera única la concentración del estímulo odorante se va

incrementando con cada intento en el cual el sujeto falla en detectar el estímulo y se disminuye con cada intento en que el sujeto detecta correctamente el estímulo<sup>100</sup>.

- **Identificación olfativa:** la capacidad de reconocer un estímulo odorífero en una concentración supraumbral.
- **Discriminación olfativa:** mide la capacidad de un individuo de reconocer dos olores como iguales o diferentes.
- **Memoria olfativa:** estudia la capacidad de un individuo de reconocer entre varios olores aquel que sea similar a un olor presentado previamente<sup>101</sup>.

Existen varias pruebas psicofísicas ya estandarizadas con diversos grados de confiabilidad, validez y practicidad:<sup>82,102</sup>

- **Prueba de identificación de olores de la universidad de Pensilvania (UPSIT):** La UPSIT (*University of Pennsylvania Smell Identification Test*) es una prueba de elección forzada entre alternativas múltiples. Posee gran sensibilidad, especificidad y practicidad; está orientada a evaluar la identificación olfativa. Puede ser completado en solitario por el paciente y rápidamente evaluado. Consta de 40 ítems, agrupados en cuatro librillos con diez ítems. En cada página se presenta una pregunta con cuatro posibles respuestas y una cintilla con un odorante microencapsulado. Existen variantes internacionales de la UPSIT en varios idiomas que consideran factores culturales en la evaluación olfatoria. La UPSIT es capaz de distinguir entre la verdadera disfunción olfatoria y los pacientes simuladores<sup>82</sup>.
- **Pruebas de tamizaje de disfunción olfatoria:** Entre las pruebas de tamizaje de disfunción olfatoria se encuentran las pruebas cortas derivadas de la UPSIT, la PST (*Pocket Smell Test*) de cuatro elementos y la B-SIT (*Brief Smell Identification Test*) de doce elementos<sup>82</sup>. Se ha utilizado exitosamente en población mexicana <sup>103</sup>.
- **Q-SIT (*Quick Smell Identification Test*).** Está integrado por tres ítems, cada uno con bandas de olores microencapsulados. En contraste con otras pruebas para la función olfatoria, la Q-SIT muestra dentro de las opciones presentadas para cada ítem la opción de indicar si el olor reconocido por el individuo no se encuentra entre las respuestas del ítem. Dos respuestas correctas o menos se interpreta como pérdida olfatoria en el individuo. Comparado con la

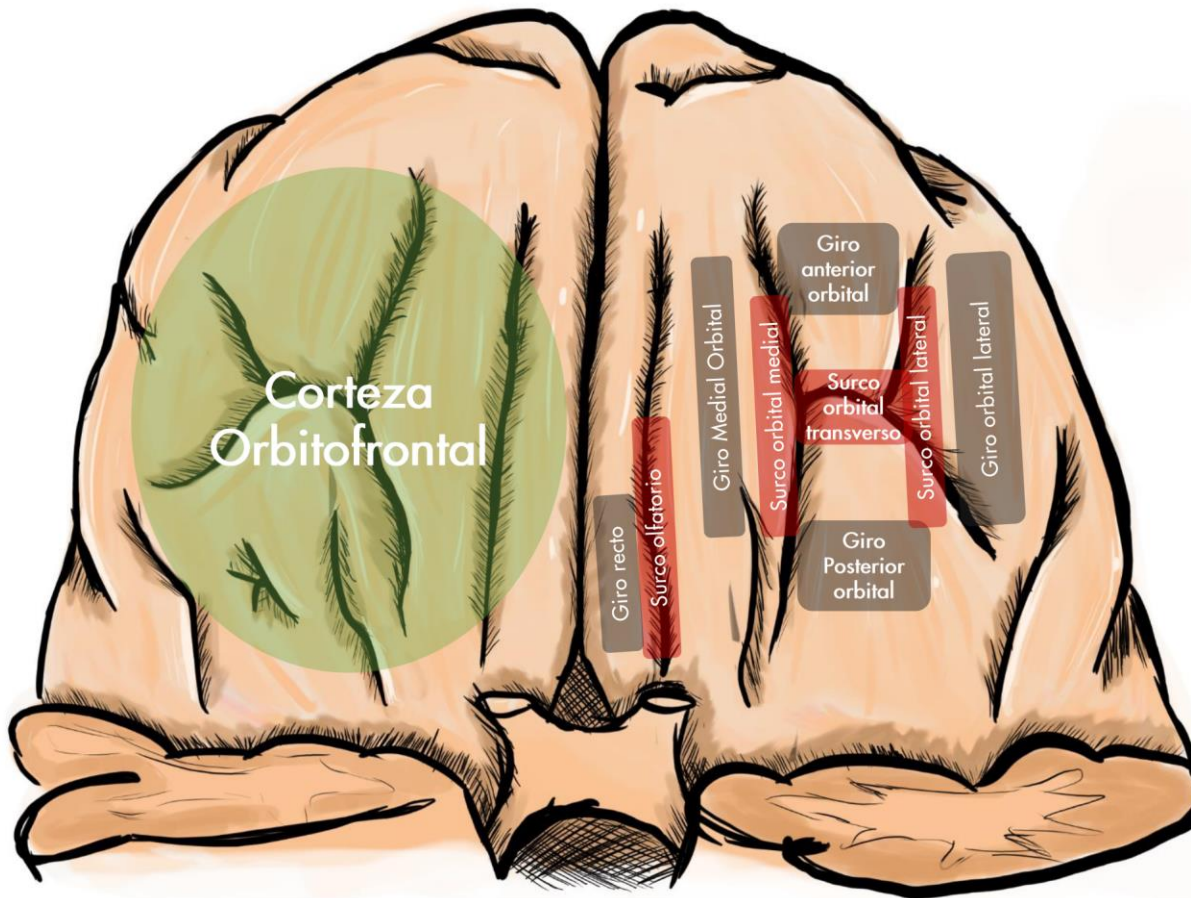
UPSIT, la Q-SIT tiene una sensibilidad de 82% para detectar cualquier pérdida olfatoria, con una especificidad de 63%<sup>104</sup>.

- **Prueba de los marcadores (*Sniffin' sticks*):** Desarrollada en Alemania para su uso en Europa. En esta prueba se emplean marcadores que contienen la sustancia odorante. También es una prueba de elección forzada. A diferencia del UPSIT, la prueba de los marcadores evalúa el umbral, la discriminación y la identificación olfatoria. En esta prueba, el paciente se encuentra cegado con una máscara para dormir. La prueba del umbral se realiza con dieciséis marcadores con el odorante en algún grado de dilución; cada marcador se presenta junto con otros dos que no contienen ningún olor. La prueba de discriminación se realiza dando a oler tripletes de marcadores, de los cuales dos son del mismo olor. Finalmente, en la prueba de identificación de olores, se presentan dieciséis marcadores, y para cada uno, debe elegirse la respuesta de entre cuatro opciones<sup>101,102</sup>.
- **Evaluación con olfatometría:** Dentro de los métodos más utilizados para aplicar un estímulo odorante se encuentran los olfatómetros. Estos pueden aplicar un estímulo odorante con una excelente resolución temporal y regulan adecuadamente la concentración de él odorante a administrar; este tipo de dispositivos nos permite evaluar cualquier aspecto de olfacción humana tras el diseño de experimentos específicos para estos<sup>105</sup>. Aunque su costo es elevado, su funcionamiento es relativamente sencillo; tal es el caso que se han publicado diversos prototipos de olfatómetros de bajo costo hechos bajo la licencia de acceso libre<sup>105,106</sup>. Para el presente proyecto se utilizó un olfatómetro creado y diseñado especialmente para este proyecto; el aparato en cuestión es de un costo muy bajo, modular, controlado por computadora y acoplable a otros métodos neurofisiológicos que se utilizan dentro de la unidad. La estandarización y más detalles de este olfatómetro se encuentran en el ANEXO.

# CAPÍTULO IV. CORTEZA ORBITOFRONTAL

## NEUROANATOMÍA DE LA CORTEZA ORBITOFRONTAL

La localización anatómica de la COF es la porción ventral del lóbulo frontal. En los seres humanos se identifican 4 surcos importantes: surco olfatorio (por donde pasa el tracto olfatorio), un surco orbital medial, un surco orbital lateral y un surco orbital transverso que corre horizontalmente entre el surco medial y lateral. Los giros generados por los surcos son los siguientes: el giro recto que se encuentra medial al surco olfatorio, el giro medial orbital que se encuentra entre el surco olfatorio y el medial, el giro medio orbital que se encuentra entre el surco medial y el lateral (cortado transversalmente por el surco transverso) y el giro orbital lateral que se encuentra lateral al surco lateral. Una representación esquemática se encuentra en la **Figura 21**<sup>107</sup>.



**FIGURA 21. GIROS Y SURCOS DE LA CORTEZA ORBITOFONTAL.**

La corteza orbitofrontal se caracteriza por ciertos surcos y giros macroscópicos, los cuáles forman una letra "H". Esta letra está dada por el surco orbital transverso, surco orbital medial y surco orbital lateral. Medialmente, se encuentra el surco olfatorio el cual divide al giro recto del giro medial orbital. El surco orbital transverso divide el giro anterior orbital del giro posterior orbital. El giro más lateral es el giro orbital lateral.

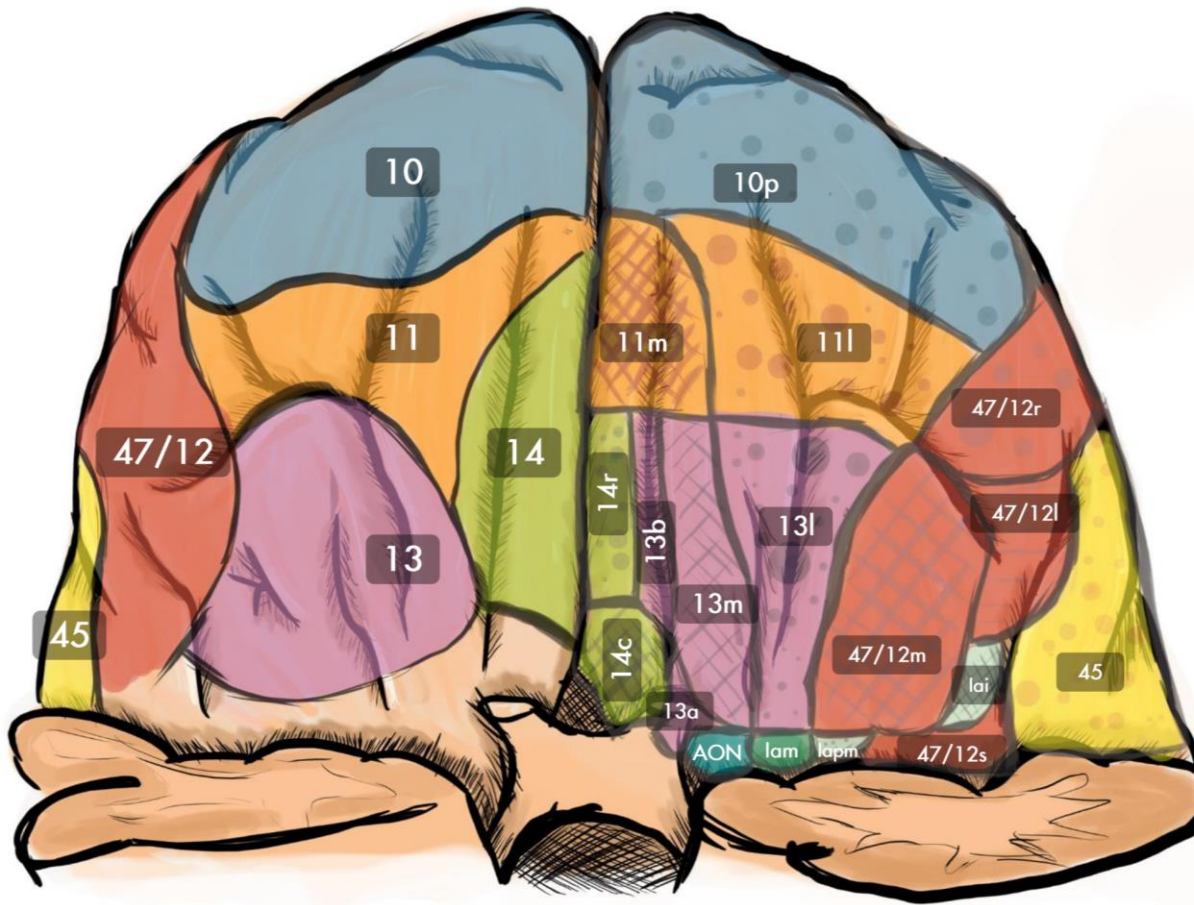
La ubicación en humanos de la corteza orbito frontal relacionada con la olfacción es discutida; al parecer se encuentra mucho más anterior que lo esperado por estudios en animales. Esta discrepancia puede deberse a las técnicas utilizadas para la experimentación animal y las técnicas utilizadas en humanos, siendo las primeras mayoritariamente estudios electrofisiológicos directos de la COF y en humanos siendo estudios de neuroimagen y lesiones<sup>108</sup>.

## ORGANIZACIÓN ARQUITECTÓNICA Y PRINCIPALES CIRCUITOS DE LA COF

Brodmann realiza el primer análisis citoarquitectónico de la COF de primates y humanos; este primer esbozo de las áreas fue muy rudimentario y únicamente incluía las áreas 10, 11 y 47. Es hasta 1994, cuando se realiza una descripción más detallada de la COF en donde se reconcilian aparentes diferencias entre la COF humana y la COF de primates no humanos y actualmente se acepta que las áreas de primates y humanos son muy similares; se adicionan a las áreas 10, 11 y 47 las áreas 14, 45 y 12. En general, la COF presenta un gradiente de granularidad celular en donde las neuronas más posteriores no presentan gránulos, mientras que las neuronas más anteriores presentan una gran cantidad de gránulos<sup>109</sup>. En la **Figura 22** se encuentra las dos descripciones más detalladas a la fecha de la organización arquitectónica de la COF.

La COF es un área con una gran cantidad de conexiones intrínsecas y extrínsecas. Dentro de las conexiones intrínsecas se encuentra la red orbitofrontal prefrontal que incluye áreas Ial, Iam, Iampl, Iapm, 13, 11l, y 12. Esta red recibe aferencias de diversas modalidades sensoriales como lo son la olfatoria, gustativa, somática, visual y auditiva; parece que su función está íntimamente relacionada con la integración sensorial multimodal. Además, esta red parece ser responsable de dar un valor afectivo a los estímulos sensoriales, esto debido a su gran conectividad con el núcleo basal amigdalino en su área ventromedial a la corteza entorrinal, perirrinal, y temporal polar. Esta misma red orbitofrontal-prefrontal se proyecta hacia el caudado en su parte lateral, el putamen en su parte ventromedial y la parte rostromedial del núcleo medio dorsal del tálamo<sup>109</sup>.

Una red separada –que incluye las áreas 25, 32, 14, 24, 11m, 13<sup>a</sup>, Iai y 12<sup>o</sup>–, denominada la red prefrontal medial, muestra una gran conectividad entra la zona medial de la COF y la zona central de la misma; esta red se considera que tiene una función visceromotora y tiene proyecciones hacia la zona ventrolateral del núcleo basal amigdalino (contrario con la red orbitofrontal que tiene conexiones en el área ventromedial), caudado medial, putamen ventral, núcleo accumbens y la parte caudal del núcleo mediodorsal del tálamo. Esta red tiene una gran cantidad de conexiones hacia el hipotálamo y la sustancia gris periacueductal, las cuáles median el control cortical de funciones autónomas, de alimentación, termo regulación y antinocicepción<sup>109</sup>.



**FIGURA 22. DIVISIONES CITO ARQUITECTÓNICAS DE LA COF.**

En el hemisferio derecho se encuentra la división descrita por Petrides y Pandya<sup>110</sup>. En el hemisferio izquierdo se encuentra la división descrita por Öngur y Price<sup>109</sup>.

## **FUNCIONES NEUROPSICOLÓGICAS DE LA CORTEZA ORBITOFRONTAL**

Una de las principales funciones de la COF, que se infiere a partir de sus conexiones anatómicas, es la de establecer un vínculo sensorial-motor. Mientras que la red orbitofrontal tiene una función integradora de estímulos sensoriales y la red prefrontal medial tiene una función potencialmente visceromotora, la integración de estas dos funciones por medio de conexiones entre las dos redes parece una función importante de la COF<sup>111</sup>.

Al ser un centro integrador de las diversas modalidades sensoriales, la COF es importante en guiar el comportamiento. La COF tiene numerosas conexiones con el sistema límbico; sujetos y animales con



daño en la COF pueden presentar un fenotipo similar a daño amigdalino<sup>112</sup>. Nauta propone que la COF utiliza todas las aferencias sensoriales para realizar u obtener el resultado más agradable para el organismo; las aferencias viscerosensoriales darían información sobre el ambiente interno mientras que las eferencias visceromotores servirían para modificar la conducta hacia el ambiente más adecuado. Cuando existe daño en la red orbitofrontal, el sujeto sufriría de “agnosia interoceptiva” (inhabilidad para determinar como el cuerpo reacciona ante conductas diversas) y por tanto la red prefrontal medial no podría ajustar el comportamiento dando como resultado déficits sociales, cognitivos y emocionales<sup>113</sup>.

Estudios neuropsicológicos soportan que la COF tiene un rol importante en asignar valor a los estímulos, elecciones emocionales, inhibición de respuestas automáticas y aprendizaje<sup>114,115</sup>. La COF derecha desempeña diversas funciones cognitivas además de las relacionadas con el olfato. Aunque existe controversia con respecto a las funciones que se le atañen a la COF derecha<sup>116</sup>, la mayoría de los autores consideran que la COF derecha tiene una función importante en el control de impulsos, la inhibición de respuestas innatas y la regulación emocional de funciones cognitivas<sup>114</sup>.

Respecto al control de impulsos e inhibición de respuestas, se ha observado que primates con daño en la COF tienen un peor desempeño en una *Go/no-Go task*<sup>117</sup>. El mismo resultado ha sido replicado en seres humanos <sup>118</sup> y en ratas <sup>119</sup>. La prueba *Go/no-Go task* es una prueba neuropsicológica que consiste en presentar una serie de estímulos *Go* y *no Go*. Un estímulo *Go* le indica al sujeto experimental que debe realizar una acción o tarea, mientras que el estímulo *no Go*, le indica al sujeto que debe abstenerse de la realización de esta tarea. Al final de la tarea, se suele aplicar una prueba complementaria donde se revierten las instrucciones y el sujeto debe realizar la tarea cuando se presente el estímulo *no Go* y debe abstenerse de la realización de la tarea ante un estímulo *Go*<sup>120</sup>. Esta prueba puede realizarse de manera física y tomando el tiempo de respuesta con un cronómetro, sin embargo, esto lleva a la posibilidad de sesgos importantes, por lo que se prefiere su aplicación por medio de un medio electrónico como una computadora<sup>120</sup>.

Entre las alteraciones que presentan los sujetos con daño en la COF se encuentra dificultad en la realización del test de Stroop<sup>121,122</sup>.

El test de Stroop consiste en presentar una palabra pintada de un color incongruente, por ejemplo, la palabra rojo pintada de color azul. Al sujeto se le pide que indique el color en el que la palabra mostrada está pintada e ignore completamente el significado de la misma. De esta forma, el cerebro recibe dos estímulos incongruentes y tiene que inhibir la respuesta de uno de los dos estímulos<sup>123</sup>.

De igual manera, sujetos con daño en la COF presentan dificultad para distinguir los estados de ánimo de voces y caras, además de dificultad para regular conductas emocionales <sup>124,125</sup>.

Las pruebas de stroop y Go/no-Go task se encuentran validadas en español y se utilizan como parte de una batería de pruebas ejecutivas para sujetos en los que se sospecha daño en la COF<sup>126</sup>. Para el presente protocolo se pretende usar la versión digitalizada de Go/no-Go task para así evitar posibles sesgos dados por la aplicación manual de la prueba, así como para poder obtener de forma exacta los diversos parámetros respuesta que nos ofrecen estas pruebas. Para esto se utilizó el software Psychopy, el cual permite programar las pruebas en cualquier ordenador y de esta forma obtener datos precisos sobre la respuesta de los sujetos.

## **ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL SOBRE LA CORTEZA ORBITOFRONTAL**

La estimulación magnética transcraneal repetitiva ha sido utilizada en diversos estudios para inhibir la función de la COF de forma segura y efectiva. La mayoría de estos estudios se han realizado en sujetos con diversas enfermedades psiquiátricas como trastorno obsesivo compulsivo, debido a que en esta patología existe una hiperactividad de los circuitos orbitofrontales<sup>127,128</sup>. Se ha utilizado también la disrupción de la COF para favorecer la formación de memoria emocional positiva<sup>129</sup>. Ruffini y cols. (2009), utilizaron un protocolo inhibitorio de rTMS sobre la COF izquierda (usando como guía el sistema internacional 10-20 del electroencefalograma) a un umbral motor del 80% a 1 Hz por 10 min durante 15 sesiones diferentes y encontró disminución significativa en la escala Yale-Brown para trastorno obsesivo compulsivo tras la aplicación de rTMS comparada con la estimulación placebo<sup>128</sup>. Nauczyciel y cols., utilizaron un protocolo inhibitorio de rTMS sobre la COF derecha (usando como guía el sistema internacional 10-20 del electroencefalograma) a un umbral motor del 120% a 1 Hz con un total de 1200 pulsos por sesión durante 10 sesiones y encontró disminución en la escala Yale-Brown para trastorno obsesivo compulsivo tras la aplicación de rTMS<sup>127</sup>. Schutter y van Honk utilizaron un protocolo inhibitorio de rTMS sobre la COF izquierda (usando como guía el sistema internacional 10-20

del electroencefalograma) a un umbral motor del 80% a 1 Hz por 20 min y encontró un incremento significativo en la memoria para caras felices después de la aplicación de rTMS<sup>129</sup>.

En los últimos años, se publicó nueva evidencia sobre el uso de otros tipos de estimulación magnética transcraneal repetitiva para la inhibición de la COF derecha <sup>130-132</sup>. La estimulación *theta burst* de forma continua puede producir una inhibición en la corteza cerebral de manera sostenida. Costa y cols. (2013), aplicaron rTMS tipo *theta burst* continua sobre la corteza orbitofrontal derecha en sujetos sanos para evaluar la lateralización de las funciones de la corteza orbitofrontal en la memoria prospectiva. El protocolo utilizado fue de una intensidad del 80% del umbral motor en activación y un total de 20 s de estimulación en una sola sesión. Encontraron que el número de errores en la prueba fue mayor cuando se estimuló la COF derecha en lugar del control<sup>131</sup>. En la **Tabla 2** se resumen las características principales de los estudios en los que se ha utilizado algún tipo de estimulación magnética transcraneal para modificar la función de la corteza orbitofrontal, tanto derecha como izquierda.

Ninguno de estos artículos donde se ha inhibido la COF derecha evalúa la función olfativa de los sujetos estudiados.

**TABLA 2. ESTUDIOS QUE UTILIZAN ALGÚN TIPO DE ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL PARA MODIFICAR LA FUNCIÓN DE LA CORTEZA ORBITOFONTAL.**

<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>Sitio de estimulación</b>	<b>Protocolo de estimulación</b>	<b>Objetivo del estudio</b>
Hanlon y cols. <sup>28</sup>	2017	Corteza orbitofrontal izquierda (fp1).	cTBS. Un total de 600 pulsos por sesión. Seis sesiones en total.	Encontrar los cambios metabólicos causados por TMS sobre la COF izquierda en personas con adicciones.
Ruffini y cols. <sup>128</sup>	2009	Corteza orbitofrontal izquierda (fp1).	1 Hz al 80% del umbral motor. Un total de 600 pulsos por sesión. 15 sesiones en total.	Encontrar si la TMS sobre la COF izquierda modifica los síntomas del trastorno obsesivo compulsivo.
Nauczyciel y cols. <sup>127</sup>	2014	Corteza orbitofrontal derecha (fp2).	1 Hz al 110% del umbral motor. Un total de 1200 pulsos por sesión. 10 sesiones en total.	Encontrar si la TMS sobre la COF derecha modifica los síntomas del trastorno obsesivo compulsivo.
Schutter y cols. <sup>129</sup>	2006	Corteza orbitofrontal izquierda (fp1).	1 Hz al 110% del umbral motor. Un total de 1200 pulsos por sesión. Una sola sesión.	Investigar la inhibición de la COF izquierda genera mejoría en la memoria positiva emocional.
Ryals y cols. <sup>133</sup>	2015	Corteza orbitofrontal bilateral.	cTBS. Un total de 600 pulsos por sesión. Una sola sesión por condición.	Determinar si la cTBS sobre la COF bilateral mejora la el monitoreo de la memoria asociativa de reconocimiento.
Costa y cols. <sup>132</sup>	2011	Corteza orbitofrontal izquierda y corteza orbitofrontal derecha.	cTBS. Un total de 600 pulsos por sesión. Una sola sesión por condición.	Identificar si la cTBS disminuye la habilidad de memoria prospectiva.
Debarnot y cols. <sup>134</sup>	2015	Corteza orbitofrontal izquierda.	iTBS y cTBS. Un total de 600 pulsos por sesión. Una sola sesión por condición.	Identificar si la iTBS aumenta la habilidad para realizar memoria prospectiva.
Volman y cols. <sup>135</sup>	2011	Corteza orbitofrontal bilateral (prefrontal anterior).	cTBS. Un total de 600 pulsos por sesión. Una sola sesión por condición.	Identificar el rol de la corteza prefrontal anterior en el control de conductas sociales.
Verbruggen y cols. <sup>136</sup>	2010	Corteza orbitofrontal derecha.	cTBS. Un total de 600 pulsos por sesión. Una sola sesión por condición.	Encontrar el papel de la corteza frontal inferior derecha en actualizar el comportamiento.

La estimulación magnética transcraneal también puede modificar el olfato de las personas con fantosmias o fantogeusias<sup>137</sup>. Las fantosmias y las fantogeusias son trastornos de la olfacción y el gusto respectivamente, en los que los sujetos tienen percepción consciente olores o sabores desagradables en la ausencia de estímulos. Henkin y cols. (2011), desarrollaron un estudio clínico en 17 sujetos con cualquiera de estas dos patologías. Se les aplicó estimulación magnética transcraneal repetitiva dando 20 estímulos a intervalos de 1 a 5 s a 40-55% de la potencia máxima de la máquina sobre la corteza temporoparietal izquierda, posteriormente sobre la corteza occipital, a continuación, sobre corteza frontoparietal derecha y por último en la corteza frontal. Al concluir el experimento se medían cambios en la intensidad de las fantosmias y fantogeusias además de cambios en la respuesta olfatoria. Si existían cambios en la cualidad olfatoria, se volvía a dar estimulación en el sitio que mejor había tenido respuesta en el primer experimento. Al final, el experimento mostró una disminución significativa en la cantidad de fantosmias y disgeusias cuando la estimulación se daba sobre la corteza frontoparietal izquierda. Además, los umbrales de detección para ciertos odorantes disminuyeron por lo que sugiere un incremento en la agudeza olfatoria. Aunque interesantes, los resultados de estudio carecen de validez externa por la gran cantidad de sesgos que se llevan a cabo: no se establece un protocolo de estimulación universal para todos los sujetos, sino que se cambia de sujeto a sujeto y se estimulan más de una zona cerebral lo que puede llevar a confundir anatómicamente las estructuras interesadas.

## **CAPÍTULO V. CONSCIENCIA OLFATORIA**

Como se mencionó en el capítulo I, la percepción consciente ocurre en todas las modalidades sensoriales y el olfato no es la excepción. La percepción consciente a estímulos odorantes corresponde a aquellas experiencias subjetivas accesibles para el sujeto que son desencadenadas por un estímulo odorante. Dadas las características biológicas del sistema olfatorio, diversos autores han propuesto que el sistema olfatorio puede ser un excelente modelo para el estudio de la consciencia debido a su neuroanatomía bien conocida y la poca complejidad de las experiencias subjetivas olfatorias<sup>69</sup>. A continuación, se hará hincapié en la experiencia subjetiva olfatoria y su diferencia con otras modalidades sensoriales.

### **DIFERENCIAS ENTRE LA CONSCIENCIA OLFATORIA Y LA CONSCIENCIA DE OTROS SENTIDOS.**

Históricamente, las experiencias conscientes han sido mayormente estudiadas en el sistema auditivo y visual. Sin embargo, algunos autores creen que, para poder delimitar correctamente las experiencias conscientes, las experiencias auditivas y visuales resultan muy complejas fenomenológicamente y se requiere de experiencias más sencillas sin influencia espacial y temporal compleja como las tienen estas modalidades<sup>69</sup>. Estos mismos autores proponen que el estudio de la consciencia debe realizarse en una modalidad sensorial en donde la experiencia no sea tan compleja, tal como lo es el olfato<sup>69</sup>. Las siguientes características hacen las experiencias olfatorias únicas y más sencillas que las de otras modalidades sensoriales:

- Cada una de las experiencias olfatorias es unitaria y no se puede descomponer en diferentes partes; aun con experiencia y entrenamiento no se pueden detectar adecuadamente más de 3 olores en una mezcla<sup>138</sup>. Además, no se pueden tener varias percepciones conscientes olfatorias a la vez. Estudios más recientes sugieren que cuando los sujetos se exponen a una mezcla de olores estos no lo interpretan como la sumatoria de dos odorantes sino como un olor en sí mismo<sup>139</sup>; esto contrasta enormemente con la experiencia consciente auditiva y visual donde se pueden percibir una gran cantidad de detalles al mismo tiempo de un mismo estímulo (color, rotación, intensidad, tono, etc.).

- No existe una experiencia olfatoria de ningún tipo cuando el sistema se encuentra infraestimulado, cuando los odorantes no se encuentran en suficiente concentración o cuando ocurre el fenómeno de habituación<sup>69</sup>. Con respecto al fenómeno de la habituación, este ocurre en todas las modalidades sensitivas, pero sucede de una manera diferente en el sentido del olfato: no hay posibilidad de un re acceso voluntario a un odorante expuesto<sup>140</sup>. Cuando ocurre un fenómeno de habituación o cuando la concentración del odorante no es lo suficientemente grande, no existe contenido consciente de la experiencia olfatoria, pero pueden existir cambios conductuales no conscientes. Este fenómeno es análogo a la “visión ciega” (*blindsight*) del sentido de la vista y se denomina “olfacción ciega” (*blindsmell*)<sup>141</sup>. Por tanto, el sentido del olfato resulta ideal para contrastar experiencias conscientes con experiencias inconscientes y de esta forma estudiar el fenómeno de la consciencia <sup>69</sup>.

Además de la relativa simplicidad de las experiencias olfatorias, el sistema olfatorio también tiene algunas diferencias importantes anatómica y fisiológicamente con otros sistemas sensoriales, las cuales lo hacen un candidato ideal para el estudio del fenómeno de la consciencia.

- Tiene la capacidad de recibir estímulos externos tanto internos; estos últimos por medio de narinas retronasales y se conoce como olfacción retronasal. Este tipo de olfacción generalmente no se procesa conscientemente como olor sino más bien suele confundirse con sabor<sup>142</sup>.
- Tiene aferencias directas a la neocorteza sin necesidad de pasar por el tálamo. El olfato es el único sistema sensorial que se encuentra a tres sinapsis de la neocorteza (bulbo olfatorio-corteza olfatoria primaria-neocorteza). Esto se debe principalmente a su localización frontal por lo que no existen conexiones occipito-frontales parecidas a las del sistema visual. A diferencia de otras modalidades sensoriales, no parece existir una influencia talámica importante en el procesamiento de señales olfatorias.
- La corteza olfatoria primaria es histológicamente paleocorteza (únicamente 3 capas celulares), mientras que los demás sistemas sensoriales siempre hacen uso de neocorteza (6 capas neuronales). Esto significa que por lo menos parte del procesamiento del estímulo odorante se realiza en un área con menor poder de procesamiento comparado con otros estímulos

sensoriales. Algunos argumentan que la pobre experiencia olfativa es consecuencia de esta menor capacidad de procesamiento<sup>143</sup>.

## **FUNCIONES OLFATORIAS DE LA CORTEZA ORBITOFRONTAL**

Con respecto al sentido del olfato, se cree que la COF está involucrada en la codificación en la identidad del olor, el valor adquirido de los olores, la codificación multimodal de estímulos olfatorios y la valencia del olor <sup>144</sup>. La valencia de un olor se refiere a la habilidad que tiene un ser humano para dar un valor hedónico a un olor (agradable, desagradable, neutro). Todas las funciones anteriores están relacionadas con la percepción consciente de estímulos odorantes y al parecer la COF derecha está relacionada con estas<sup>75</sup>.

Muchas especies de vertebrados e invertebrados tienen un sentido del olfato funcional sin necesidad de tener COF. La aparición del sentido del olfato es filogenéticamente mucho más antigua que el desarrollo de la neocorteza. Por tanto, la neocorteza y en específico el lóbulo frontal se han asociado con aprendizaje, asignación de valor y la capacidad de modificar comportamiento instintivo innato <sup>145</sup>.

Las primeras aproximaciones experimentales acerca de la COF en la neurofisiología del olfato se realizaron en la primera mitad del siglo XX. En 1933 gatos a los cuales les fue extirpado la neocorteza preservaron reacciones evocadas por olores<sup>108</sup>. En estudios posteriores, la ablación de ambos lóbulos frontales en perros causó un retraso en el aprendizaje de un reflejo condicionado olfatorio<sup>146</sup>. Por lo cual la COF parece tener un rol importante en el aprendizaje de olores.

En humanos existe una larga historia de estudio en lesiones focales neurológicas que pueden orientar al científico sobre las funciones específicas de la zona anatómica lesionada. Sin embargo, esta aproximación únicamente establece correlación en la mayoría de los casos y no causalidad. Además, las lesiones generalmente son más extensas y no se puede aislar adecuadamente las zonas anatómicas a estudiar. Existen diversos casos de lesiones donde se ha visto afectada la olfacción, la mayoría de ellos muestran implicaciones de la COF<sup>147-150</sup>. No obstante, lesiones en partes tan diversas como el lóbulo temporal y la corteza prefrontal también causan déficits en la percepción olfatoria consciente<sup>149</sup>.

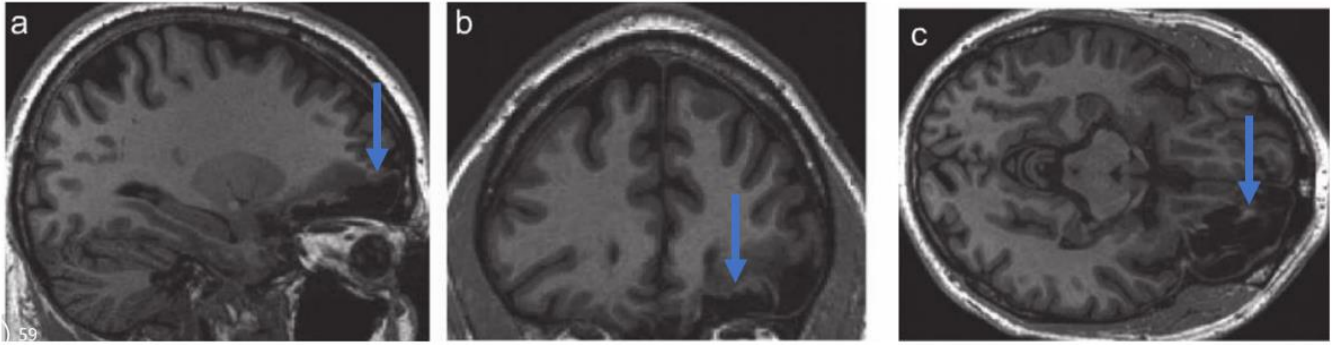


## **CORTEZA ORBITOFRONTAL DERECHA COMO CORRELATO NEUROLÓGICO DE LA CONSCIENCIA**

El reporte más importante es el que realizó Li y cols.<sup>75</sup>, en el cual un sujeto previamente sano y diestro, que a la edad de 33 años, sufrió de una hemorragia contusional en el lóbulo frontal derecho inferior tras caer de unas escaleras. Se recuperó satisfactoriamente con tratamiento conservador, pero tuvo como secuela anosmia. La resonancia magnética mostraba daño únicamente de la COF derecha preservando el resto de las estructuras importantes para la olfacción. No había fracturas en la lámina cribiforme u otro daño en nariz o senos paranasales. La endoscopía nasal confirmó que las estructuras periféricas nasales se encontraban intactas. El sujeto no presentó alteraciones neuropsicológicas que pudieran afectar los experimentos realizados en el estudio. El sujeto se sometió a un experimento donde se le daban a le daban diversos estímulos odorantes al mismo tiempo que se le realizaba una resonancia magnética funcional. La habilidad para detectar olores por el sujeto no fue mejor que la dada por el azar, aunque resultó mejor la habilidad de la narina izquierda comparada con la derecha. Se utilizaron controles sanos diestros para evaluar si el paradigma era responsable de la inhabilidad para detectar olores, pero los sujetos sanos los detectaron correctamente<sup>75</sup>.

No todos los reportes de daño a la COF reportan anosmia: Zatorre y Jones-Gorman reportaron que en sujetos con escisión del lóbulo frontal la detección de umbrales a estímulos odorantes está intacta mientras que únicamente se ve afectada la discriminación de nuevos odorantes; asumiendo la COF un rol más importante en el aprendizaje de nuevos odorantes y discriminación que en la consciencia olfatoria<sup>149</sup>.

No existe suficiente evidencia en estudios de lesiones para afirmar terminantemente que la COF es necesaria para la percepción consciente de estímulos odorantes.



**FIGURA 23. LESIÓN ORBITOFRONTAL Y RELACIÓN CON LA PERCEPCIÓN CONSCIENTE.**

A. Se muestra un corte parasagital en donde se observa el daño en el tejido nervioso en la corteza orbitofrontal derecha (flecha azul). B. Corte coronal a la altura de los ojos que muestra el daño en la corteza orbitofrontal derecha. C. Corte transversal a la altura de mesencéfalo que muestra extenso daño en la corteza orbitofrontal derecha<sup>75</sup>.

Con respecto a la investigación realizada con métodos de neuroimagen, el primer reporte de la actividad de la COF en la función olfatoria fue en 1992, donde se encontró que existía una lateralización hacia el lado derecho en la COF humana<sup>151</sup>. Tras este estudio, han surgido una gran cantidad de estudios que muestran los diversos sitios anatómicos de activación de la corteza olfatoria humana<sup>152</sup>. Diversos estudios de neuroimagen han estudiado la función de la COF humana en la olfacción. Poellinger y cols. (2001), describen que sujetos expuestos a un estímulo odorante durante un minuto son capaces de identificarlo aun cuando la corteza olfatoria primaria se activa con brevedad y regresa rápidamente a su activación basal. En este mismo experimento la COF permaneció activada durante prácticamente todo el experimento y el tiempo en que el sujeto fue capaz de identificar el estímulo odorante. El periodo de activación del núcleo medio dorsal del tálamo es de 15 s y después decrece, aun cuando el sujeto siga expuesto al odorante, por lo que la COF no se habitúa rápidamente y podría tener efecto importante en evitar la habituación a un estímulo odorante<sup>153</sup>.

# Planteamiento del problema

Desde que Crick y Koch<sup>10</sup> proponen por primera vez los correlatos neurológicos de consciencia como un medio para explicar las experiencias conscientes, increíbles descubrimientos han ocurrido en las neurociencias<sup>14</sup>. Sin embargo, las teorías neurales de la consciencia han sido inferidas principalmente de hallazgos en el sistema visual y auditivo que dada sus características no son completamente homólogos a otras modalidades sensoriales<sup>143</sup>.

De acuerdo con la mayoría de las hipótesis sobre la consciencia actuales, un circuito funcional entre tálamo y neocorteza es esencial para la integración de percepciones conscientes<sup>154</sup>. Sin embargo, el sistema olfatorio no parece requerir de esta conexión debido a que los receptores a odorantes periféricos conectan directamente a estructuras corticales, saltando el relevo talámico que se observa en otras modalidades<sup>143</sup>.

Se ha teorizado que las diferentes características fenomenológicas de la percepción consciente olfatoria podrían ser explicadas por vías de procesamiento más sencillas que las de otras modalidades sensoriales. De acuerdo a esta teoría, la corteza de integración final de la percepción consciente olfatoria sería la corteza piriforme, una corteza con solo tres capas de células<sup>69</sup>. Esta controversial teoría pondría al correlato neurológico de la consciencia olfatoria en la paleocorteza en lugar de la neocorteza.

Una hipótesis alternativa fija los correlatos neurológicos de la consciencia olfatoria en la COF derecha, una estructura neocortical. La correlación entre el metabolismo de la COF derecho y la percepción olfatoria consciente fue primeramente descrita por Zatorre y cols.<sup>151</sup>; a partir de esta evidencia, una gran cantidad de estudios de neuroimagen<sup>108,115,152</sup> y lesiones soportan estas relaciones<sup>75,149</sup>. Sin embargo, una gran deficiencia de este tipo de estudios para establecer causalidad es la poca resolución temporal que tienen. Además, existe evidencia contradictoria acerca de la COF derecha y la percepción olfatoria consciente: estimulación directa sobre la COF derecha no produce percepciones olfatorias en niños con epilepsia<sup>155</sup> y no todos los sujetos con daño en la COF derecha tienen déficits olfatorios<sup>148</sup>.

La estimulación magnética transcraneal repetitiva (rTMS por sus siglas en inglés) es un método de estudio de la corteza cerebral seguro y no invasivo<sup>17</sup>. Al aplicar los pulsos magnéticos de manera repetida es posible disrumpir transitoriamente la actividad cortical y por tanto generar experimentos

en el cual se pueda establecer un patrón temporal de los hechos. Diversos estudios han utilizado la rTMS para afectar la actividad de la COF derecha<sup>17</sup>; entre estos, la rTMS tipo *theta burst* continua (cTBS por sus siglas en inglés) ha sido la más efectiva<sup>130,132,133,135,156</sup>.

Para incluir a la modalidad sensorial del olfato en el paradigma actual de investigación sobre los correlatos neurológicos de la consciencia nueva evidencia experimental es necesaria para relacionar temporalmente la COF derecha y la consciencia olfatoria. Por tanto, al elucidar esta relación temporal, nuestro estudio pretende cerrar las brechas entre la investigación de neuroimagen y lesiones de la COF derecha sobre la percepción olfatoria consciente.

# Hipótesis

- La estimulación magnética transcraneal repetitiva tipo cTBS sobre la corteza orbitofrontal derecha disminuirá la capacidad para percibir conscientemente estímulos odorantes comparado con la cTBS sham.
- La estimulación magnética transcraneal repetitiva tipo cTBS sobre la corteza orbitofrontal derecha aumentará el número de errores en la prueba de *Go/no-Go task* comparado con la cTBS sham.
- La estimulación magnética transcraneal repetitiva tipo cTBS sobre la corteza orbitofrontal derecha disminuirá la capacidad para identificar una señal olfatoria con respecto a un blanco.

# Objetivos

## GENERALES

- Inhibir la COF derecha con cTBS y evaluar los cambios en la percepción consciente a estímulos odorantes de sujetos sin patología conocida.
- Inhibir la COF derecha con cTBS y evaluar los cambios en las respuestas de una *Go/no-Go task*, en sujetos sin patología conocida.

## ESPECÍFICOS

- Diseñar un olfatómetro para la aplicación de estímulos odorantes de forma controlada y cronometrada.
- Determinar el umbral de detección olfatorio para cada uno de los odorantes a utilizar en cada uno de los sujetos estudiados.
- Utilizar una combinación de neuro navegación y posicionamiento con el sistema 10-20 para localizar la COF derecha en cada uno de los sujetos a estudiar.

- Evaluar la percepción consciente a estímulos odorantes en una concentración umbral antes y después de estimulación magnética transcraneal repetitiva y estimulación sham.
- Evaluar si la cualidad de los estímulos odorantes influye en la percepción consciente de estímulos odorantes tras la inhibición de la COF.
- Evaluar si existe una correlación entre los resultados de la prueba Go/no-Go task con el desempeño olfatorio.

# Materiales y métodos

## PARTICIPANTES

Sujetos entre 18 y 30 años fueron reclutados para el presente estudio. Los sujetos no tenían historia de enfermedades cerebrales, disfunción sensorial y no consumían ningún medicamento con actividad en el sistema nervioso central. Todos los sujetos fueron tamizados para disfunción olfatoria utilizando la prueba *Quick Smell Identification Test*<sup>TM</sup> (Sensonics International, Haddon Heights, NJ).

Un total de 21 sujetos fueron reclutados. De estos, 17 sujetos satisficieron los criterios de selección. Dos sujetos no concluyeron el experimento debido a molestias durante el experimento y los resultados de un total de 15 sujetos fueron utilizados para el análisis (10 mujeres, 5 hombres, edad promedio  $22.40 \pm 3.41$  años). Los sujetos proveyeron su consentimiento informado para participar en el presente estudio. El protocolo fue revisado y aceptado por los comités de ética y de investigación del Hospital General Dr. Manuel Gea González (número de protocolo 49-25-2018). El estudio se condujo de acuerdo con la declaración de Helsinki<sup>181</sup>. En la **Tabla 2** se pueden consultar los criterios de inclusión, exclusión y eliminación para el presente estudio.

## DISEÑO EXPERIMENTAL

Todos los sujetos recibieron ambos tipos de cTBS (real y sham). Los procedimientos experimentales fueron realizados en dos sesiones diferentes, con al menos una semana de separación para evitar efectos de contaminación entre sesiones. El orden de la estimulación fue aleatorizado para evitar posibles sesgos. Tanto los sujetos de estudio como el investigador que aplicó las pruebas olfatorias se encontraban cegados al tipo de estimulación recibido en cada sesión. La estimulación magnética fue aplicada por un segundo investigador que no tuvo participación en la medición del olfato.

### TABLA 3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN.

Un total de 21 sujetos fueron reclutados para el presente estudio, pero únicamente 17 sujetos satisficieron los criterios de inclusión y exclusión. Dos sujetos no concluyeron el experimento debido a molestias durante el experimento.

#### Crterios de Inclusión

- Tener igual o más de 18 años y hasta 30 años.
- Ser diestro.
- Aceptar participar en el estudio previo consentimiento informado.
- Normosmia en la medición basal de la capacidad olfatoria medida por el *Quick Smell test*.

#### Crterios de exclusión

- Tener cualquier limitación física o mental que impida completar el protocolo de estudio.
- Reportar el contar con diagnóstico o recibir tratamiento por algún trastorno psiquiátrico o neurológico.
- Reportar el contar con diagnóstico o recibir tratamiento por algún trastorno de las vías aéreas superiores crónico.
- Reportar el contar con antecedente de epilepsia.
- Ser ambidiestro.
- Reportar el contar con diagnóstico o recibir tratamiento por algún trastorno de la olfacción.
- Reportar haber padecido alguna enfermedad de las vías aéreas superiores en las últimas dos semanas.
- Haber recibido algún traumatismo craneoencefálico moderado a severo en cualquier momento de su vida.
- Anosmia o hiposmia en la medición basal de la capacidad olfatoria medida por el *Quick Smell test*.

#### Crterios de Eliminación

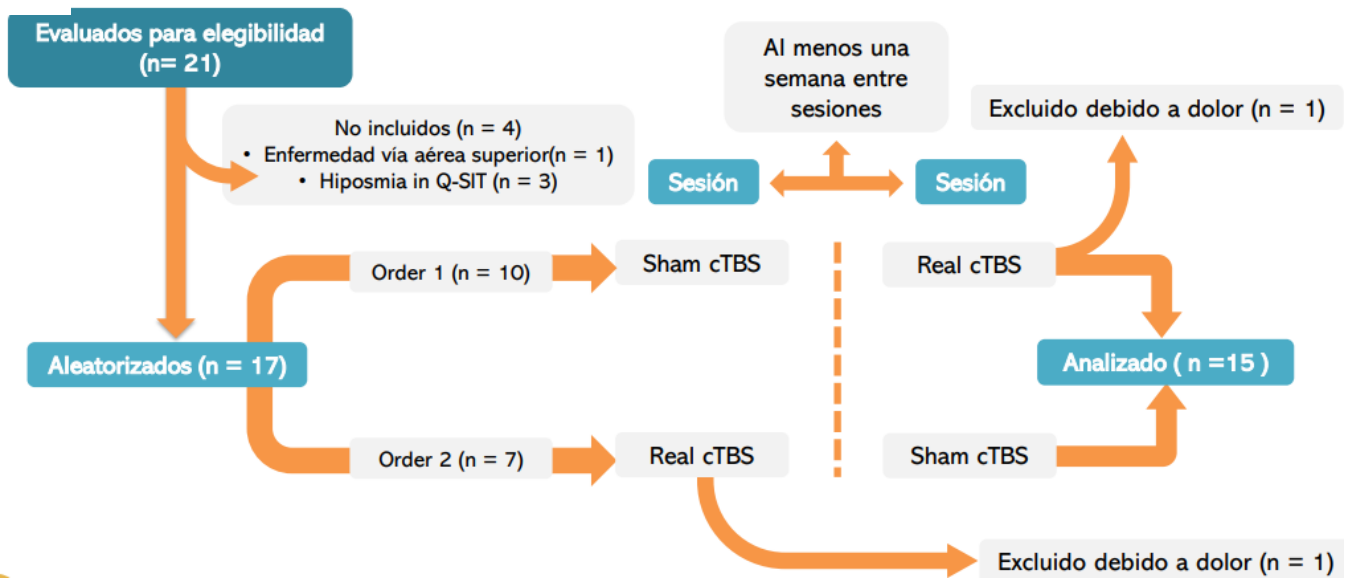
- Cuando por algún motivo sea imposible completar el protocolo de estudio.
- Cuando por algún motivo desee abandonar el estudio.
- Reportar ansiedad severa en el momento del estudio.
- Presentar datos clínicos de infección de las vías aéreas superiores el día que se realice el protocolo de estudio.
- Que el sujeto reporte sensibilidad elevada o efectos secundarios a la estimulación.
- Haber consumido alguna sustancia psicoestimulante o psico depresoras en las últimas 24 horas previas al estudio:
  - Cafeína.
  - Teofilina.
  - Cocaína.
  - Marihuana.
  - LSD.
  - Metanfetaminas.
  - Psicotrópicos.
  - Éxtasis.
  - Benzodiacepinas.
  - Antidepresivos.



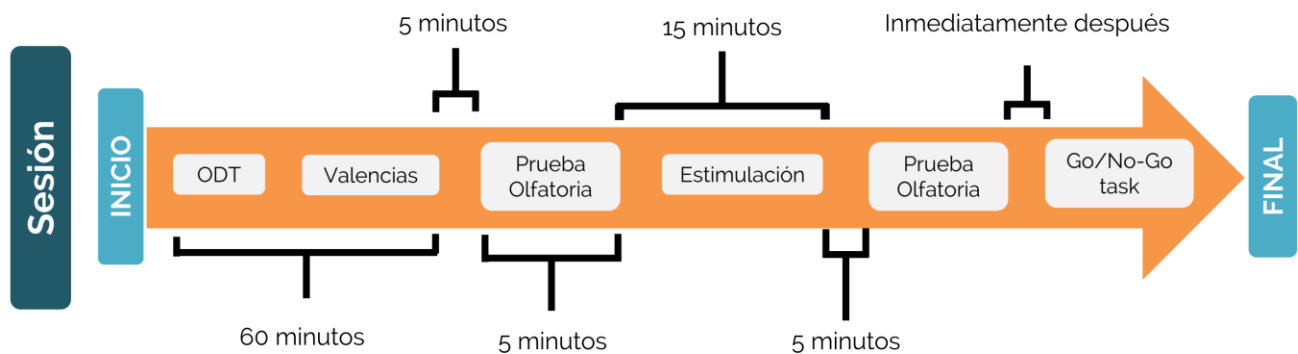
Cada sesión consistió en la recolección de dos mediciones diferentes de la percepción consciente a los odorantes: la primera se realiza de manera basal y la segunda 5 min. después de la estimulación magnética. El umbral olfatorio de detección (ODT, por sus siglas en inglés) se calculó para cada odorante utilizado. A cada uno de los odorantes utilizados se les midió que tan agradable o desagradable resultaba para los sujetos (valencia del odorante). Finalmente, como control positivo de la inhibición de la COF derecha<sup>157</sup>, los sujetos realizaron una Go/no-Go Task a cada uno de los sujetos 10 min después de la aplicación de la estimulación magnética.

Un resumen de los procedimientos se puede encontrar en la **Figura 24**.

A)



B)



**FIGURA 24. FLUJOGRAMA Y PROCEDIMIENTOS REALIZADOS DURANTE UNA SESIÓN.**

A) flujograma del estudio realizado. En total se reclutaron 21 sujetos de los cuales 4 no cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión, un total de 17 sujetos entraron al estudio y fueron aleatorizados a cualquiera de los dos órdenes de estimulación posibles (10 sujetos a orden 1 y 7 sujetos a orden 2). Tras la estimulación real, 1 sujeto de cada uno de los órdenes fue excluido debido al dolor. Al final se utilizaron los datos de 15 sujetos para el análisis de resultados. B) Procedimientos realizados durante una sesión. Cada una de las sesiones comenzaba con el cálculo del umbral de detección olfatoria y la valencia para cada uno de los 3 odorantes utilizados (60 min). A continuación, se daban 5 min para que el sujeto descansara y se realizaba la olfatoria basal. Justo después se preparaba y aplicaba la cTBS. Al finalizar la cTBS se daba un tiempo de 5 min para que el sujeto descansara y tras esta pausa se iniciaba la medición olfatoria posterior. Justo al finalizar la última medición olfatoria se aplicó la prueba go/no-go.

## **ESTÍMULOS ODORANTES**

Para evitar sesgos en las respuestas de los sujetos debido a la valencia de los odorantes<sup>158</sup>, se utilizaron odorantes con tres diferentes valores de valencia: ácido valérico (Sigma-Aldrich, número de catálogo 240370) con un olor putrefacto y desagradable, alfa-pinene (Sigma-Aldrich, número de catálogo 147524) que tiene un olor neutro a madera y amil acetato (Sigma-Aldrich, número de catálogo 109584) que tiene un olor agradable a rosas. Se realizaron diluciones seriadas a la mitad de cada uno de los tres odorantes iniciando en una concentración del 8% y finalizando en una concentración de  $2.5 \times 10^{-4}$  % (un total de 16 diluciones). Propileno glicol (Sigma-Aldrich, número de catálogo P4347) fue utilizado como el solvente de todas las diluciones. En los Anexos se encuentran los detalles de las diluciones realizadas, así como las concentraciones que se utilizaron.

## **UMBRAL DE DETECCIÓN OLFATORIA (OLFACTORY DETECTION THRESHOLD, ODT)**

El ODT se encuentra al determinar la concentración mínima en cual un sujeto puede detectar un odorante. Debido a una gran cantidad de variables que pueden afectar el ODT de un día para otro<sup>159-161</sup>, el ODT fue calculado individualmente para cada uno de los odorantes al inicio de cada una de las sesiones. Para establecer el ODT, se utilizó un paradigma de respuesta forzada, de una sola escalera tal como fue descrito por Doty<sup>82</sup>. Se utilizó un olfatómetro diseñado específicamente para este protocolo

(basado en diseños previamente publicados<sup>105,106</sup>) para administrar los estímulos odorantes. El estímulo odorante era aplicado a ambas fosas nasales por un periodo de 5 s. La concentración obtenida del ODT fue posteriormente usada para las pruebas de percepción consciente olfatoria. Más detalles sobre el paradigma psicofísico utilizado se pueden encontrar en los Anexos.

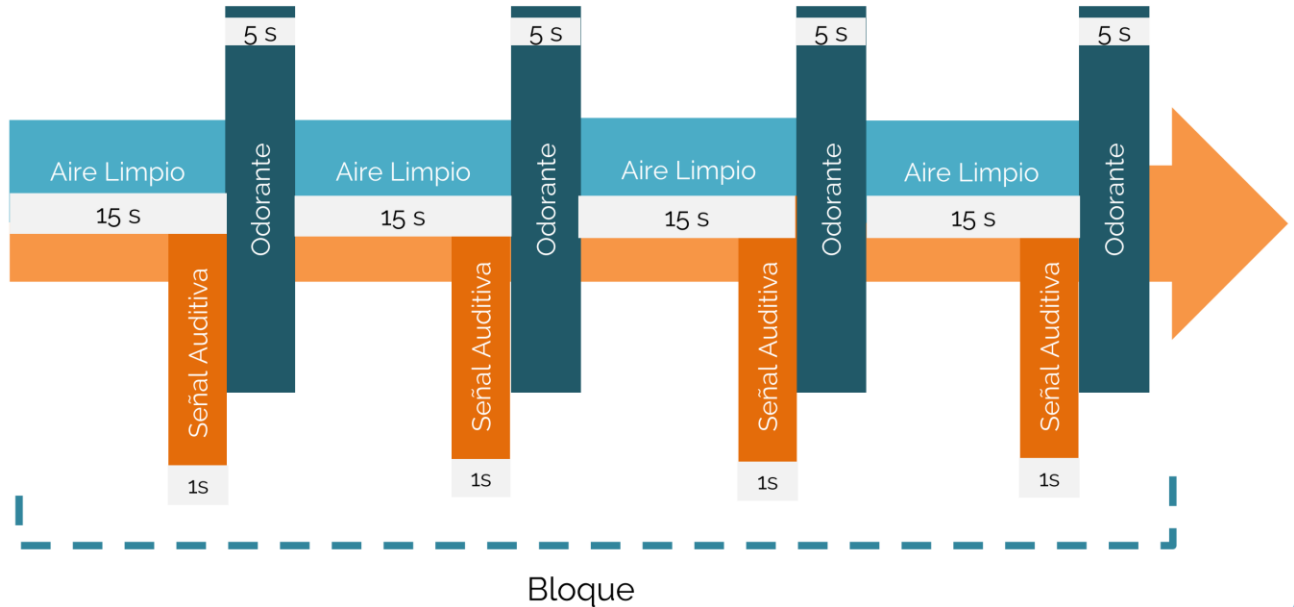
## **EVALUACIÓN DE LA VALENCIA OLFATORIA.**

La valencia olfatoria es definida como qué tan agradable resulta un odorante para un individuo en particular. Debido a que las preferencias personales pueden influenciar la valencia evocada por los odorantes, al inicio de cada una de las sesiones medimos la valencia de cada uno de los odorantes a la concentración obtenida de los ODT. Se utilizó una escala visual análoga similar a la descrita por Clepce y cols., para medir la valencia<sup>162</sup>. Para cada odorante, los sujetos eran presentados con una hoja de papel con una línea recta de 20 cm. Una marca y un cero se encontraba impresa en el centro de la línea; símbolos negativos (“---”) y positivos (“+++”) fueron impresos en los extremos izquierdos y derechos de la línea respectivamente. Los sujetos fueron instruidos en evaluar los odorantes: el extremo izquierdo representaba el olor más desagradable que pudieran recordar y el extremo derecho representaba el olor más agradable que pudieran recordar. El cero indicaba un olor que no era ni agradable ni desagradable, un olor neutro. Los sujetos tenían que indicar con una marca cualquier punto de la línea en donde ellos percibieran se encontraba el olor. La distancia de la marca del sujeto con respecto al cero fue tomada como una variable continua de valencia.

## **PRUEBA DE PERCEPCIÓN CONSCIENTE OLFATORIA.**

Medir la percepción en cualquier modalidad sensorial es controversial, sin embargo, es ampliamente aceptado que el auto reporte de las experiencias son una forma válida de medir percepción consciente<sup>163</sup>. Diseñamos una prueba similar a la publicada por Li y cols.<sup>75</sup> Se aplicaron los odorantes previamente nombrados más un estímulo sin odorante (propilen glicol) directamente a la nariz de los sujetos utilizando el olfatómetro diseñado. Un bloque de estimulación consistía en los 4 estímulos (3 odorantes y 1 sin odorante) administrados uno tras de otro en forma aleatoria con una separación de aire limpio de 15 s entre estímulo y estímulo. La prueba consistió en dos bloques de estimulación separados por un minuto. Todos los sujetos tenían los ojos vendados para evitar interferencia visual.

Los sujetos eran instruidos en apretar un botón solamente si detectaban un odorante. Para enfocar la atención de los sujetos, se les instruyó que solamente olieran tras una señal auditiva. Respuestas correctas (verdaderos positivos y verdaderos negativos) y errores (falsos positivos y falsos negativos) fueron registrados. Un resumen de la prueba se encuentra en la **Figura 25**.



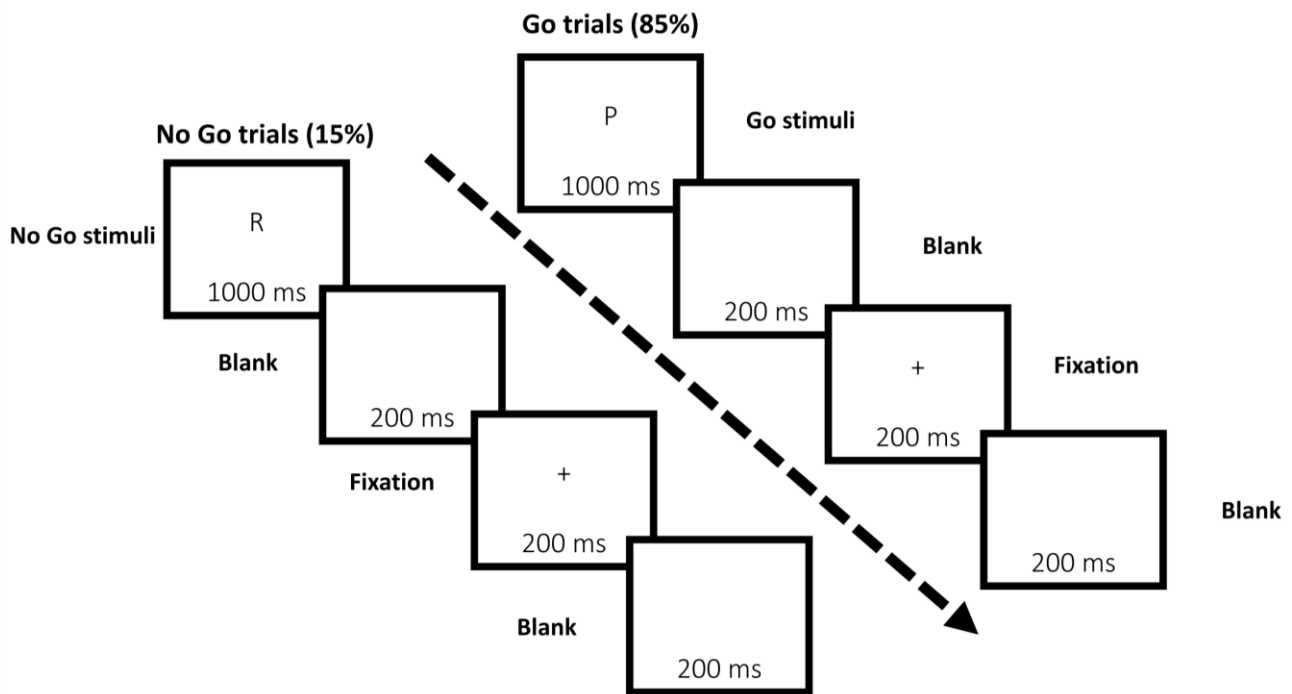
**FIGURA 25. DESCRIPCIÓN DE UN BLOQUE EN LA PRUEBA DE EVALUACIÓN DE PERCEPCIÓN OLFATORIA CONSCIENTE.**

Un bloque de estimulación consistía en los 4 estímulos (3 odorantes y 1 sin odorante) administrados uno tras de otro en forma aleatoria con una separación de aire limpio de 15 s entre estímulo y estímulo. Cada uno de los cuatro odorantes fueron presentados por 5 s; 1 s antes de la estimulación con el odorante, se daba una señal auditiva al sujeto para que fijara la atención.

## GO/NO-GO TASK

La corteza orbitofrontal derecho está ampliamente asociada con la inhibición de la respuesta motora<sup>114</sup>. Alteración en la inhibición motora ha sido reportada en humanos<sup>157</sup> y en primates no humanos<sup>117</sup> tras la inhibición de la actividad de la corteza orbitofrontal. Una *Go/no go task*<sup>120</sup> fue utilizada para medir la inhibición a respuestas motoras en nuestros sujetos con el fin de corroborar que se había afectado la función orbitofrontal con cTBS. Se utilizó el software Psychopy<sup>164</sup> para diseñar y administrar la *Go/no-go task*. Respuestas correctas y errores fueron registrados. La prueba consiste en dos tipos de estímulos

un estímulo “Go” (señalado por la letra P) y un estímulo “No Go” (señalado por la letra R). A cada sujeto se le instruye que oprima la barra espaciadora cuando observa un estímulo Go y que se abstenga de oprimir cualquier botón en caso de que observe un estímulo No Go. Ambos estímulos (Go y no Go) son presentados por 1000 ms, luego por 200 ms de una pantalla en blanco, luego por 200 ms con una cruz para fijar atención y unos últimos 200 ms con la pantalla en blanco. Se aplicaron un total de 120 estímulos de forma aleatoria siguiendo la proporción de ser 85% estímulos Go y 15% estímulos no Go. Para el análisis de resultados, se descartaron los primeros 20 ensayos para evitar errores por aprendizaje<sup>120,126</sup>. Los detalles de la prueba se encuentran en la **Figura 26**.



**FIGURA 26. COMPONENTES Y DURACIÓN DE LA GO/NO-GO TASK.**

La prueba consiste en dos tipos de estímulos un estímulo “Go” (señalado por la letra P) y un estímulo “No Go” (señalado por la letra R). A cada sujeto se le instruye que oprima la barra espaciadora cuando observa un estímulo Go y que se abstenga de oprimir cualquier botón en caso de que observe un estímulo No Go. Ambos estímulos (Go y no Go) son presentados por 1000 ms seguido por 200 ms de una pantalla en blanco 200 ms con una cruz para fijar atención y unos últimos 200 ms con la pantalla en blanco. Se aplicaron un total de 120 estímulos de forma aleatoria siguiendo la proporción de ser 85% estímulos Go y 15% estímulos no Go.

# ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA TRANSCRANEAL

Un protocolo de estimulación magnética transcraneal repetitiva del tipo theta burst continua (cTBS por sus siglas en inglés) fue utilizado para disrumpir la actividad de la COF derecha. Se utilizó una máquina Magstim Rapid 2 (Magstim Co., Whitland Wales UK) para generar los pulsos magnéticos. Una bobina en forma 8 de 70 mm de diámetro fue utilizada para todos los procedimientos experimentales. El procedimiento de cTBS fue inicialmente descrito por Huang<sup>26</sup> y consiste en un tren de 20 s donde se dan 3 pulsos a 50 Hz separados por 200 ms; en total se aplican 300 pulsos. La intensidad de la máquina utilizada fue la de 80% del potencial motor activo (AMT por sus siglas en inglés) de cada sujeto en particular. El AMT fue calculado en cada sesión para cada sujeto en el primer interóseo dorsal. Se definió AMT como la intensidad mínima requerida para producir un potencial motor evocado en el músculo ya mencionado con cuando menos una amplitud de 200  $\mu$ V cuando el músculo se encuentra en una contracción igual a 20 % de la fuerza máxima<sup>26</sup>. La inhibición causada por cTBS dura al menos 15 min después de la estimulación<sup>26</sup>.

Para localizar la COF derecha se combinaron las coordenadas 10-20 de EEG para Fp2 y neuro navegación asistida por el software Visor2 y una cámara Polaris Vicra 3d. Las coordenadas del punto Fp2 fueron localizadas en el cráneo de cada sujeto tal como es descrito por Herwig<sup>165</sup>. La localización anatómica fue luego digitalizada y unida a una a un modelo estandarizado de Resonancia magnética con el software Visor2. La cTBS real fue aplicada tangencialmente en el sitio de estimulación con el mango de la bobina dirigido hacia arriba, mientras que la cTBS sham fue aplicada en el mismo sitio, pero con la bobina girada 90° en contra del sitio de estimulación.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Todo el análisis estadístico se realizó con el software IBM SPSS Statistics 20 para Windows. Las figuras fueron creadas con el software GraphPad Prism 8 para Windows. Para evaluar diferencias entre la condición real y sham se utilizaron pruebas t de student para muestras pareadas para el ODT, valencias de odorantes, AMT y los resultados de la Go/no-Go task. Una ANOVA de medidas repetidas y dos vías fue utilizada para establecer la interacción entre tiempo (basal vs post estimulación) y el tipo de estimulación (sham vs real) en las respuestas de la prueba de percepción consciente olfatoria. Se utilizó

una prueba de correlación de Spearman para determinar si existía una relación entre los errores de la prueba Go/no-go task y los errores en la prueba de precepción consciente olfatoria. Valores  $p < 0.05$  fueron considerados como estadísticamente significativos a menos que se especifique de otra manera.

Se utilizó una aproximación de teoría de detección de señales para determinar cambios en la tasa de aciertos (*Hit rate*) y la tasa de rechazo correcta (*Correct rejection rate*) entre pruebas. Los aciertos (verdaderos positivos), las falsas alarmas (falsos positivos), las fallas (falsos negativos) y los rechazos correctos (verdaderos negativos), fueron calculados al aunar los resultados de todos los sujetos en cada una de las mediciones (basal sham, post sham, basal real, post real). Para comparar simultáneamente la tasa de aciertos (Hits/Hits+fallas) y la tasa de rechazo correcta (rechazos correctos/rechazos correctos + falsas alarmas), se utilizó el método utilizado por Newcombe<sup>166</sup>. Este método calcula la diferencia con intervalos de confianza del 95 % entre la tasa de aciertos y la tasa de rechazo correcta entre dos condiciones. Todos los cálculos de este método fueron realizados utilizando el archivo de Excel provisto por un libro del mismo autor<sup>167</sup>. El parámetro  $\lambda$  es un parámetro mixto que representa la ponderación de la tasa de aciertos y la tasa de rechazo correcta. Para este método se asumió significancia estadística cuando los intervalos de confianza al 95% no cruzaban el cero<sup>166</sup>.

# Resultados

Un resumen de los resultados se encuentra en la **Tabla 3**. Las variables que pudieron modificar el resultado de nuestro estudio (valencias de odorante, AMT y ODT) no variaron entre grupos (real vs sham). Todas las variables tuvieron una distribución normal por lo que se utilizaron pruebas t de student para muestras pareadas. No se encontró diferencia estadística en los ODT de cada uno de los odorantes entre sesiones (alfa-pineno  $t(14) = -1.142$ ,  $p = 0.273$ ; acetato de amilo  $t(14) = -0.472$ ,  $p = 0.644$ ; ácido valérico  $t(14) = -1.558$ ,  $p = 0.142$ ; **Figura 27**). La valencia de los odorantes no fue estadísticamente diferente entre las sesiones y entre los odorantes (alfa-pineno  $t(14) = 1.427$ ,  $p = 0.176$ ; acetato de amilo  $t(14) = -0.718$ ,  $p = 0.484$ ; ácido valérico  $t(14) = -0.307$ ,  $p = 0.487$ ; **Figura 28**). El AMT no fue diferente entre sesiones  $t(14) = -0.307$  y  $p = 0.764$  (**Figura 29**).

**TABLA 4. RESULTADOS DE LAS DIFERENTES VARIABLES MEDIDAS EN AMBAS SESIONES.**

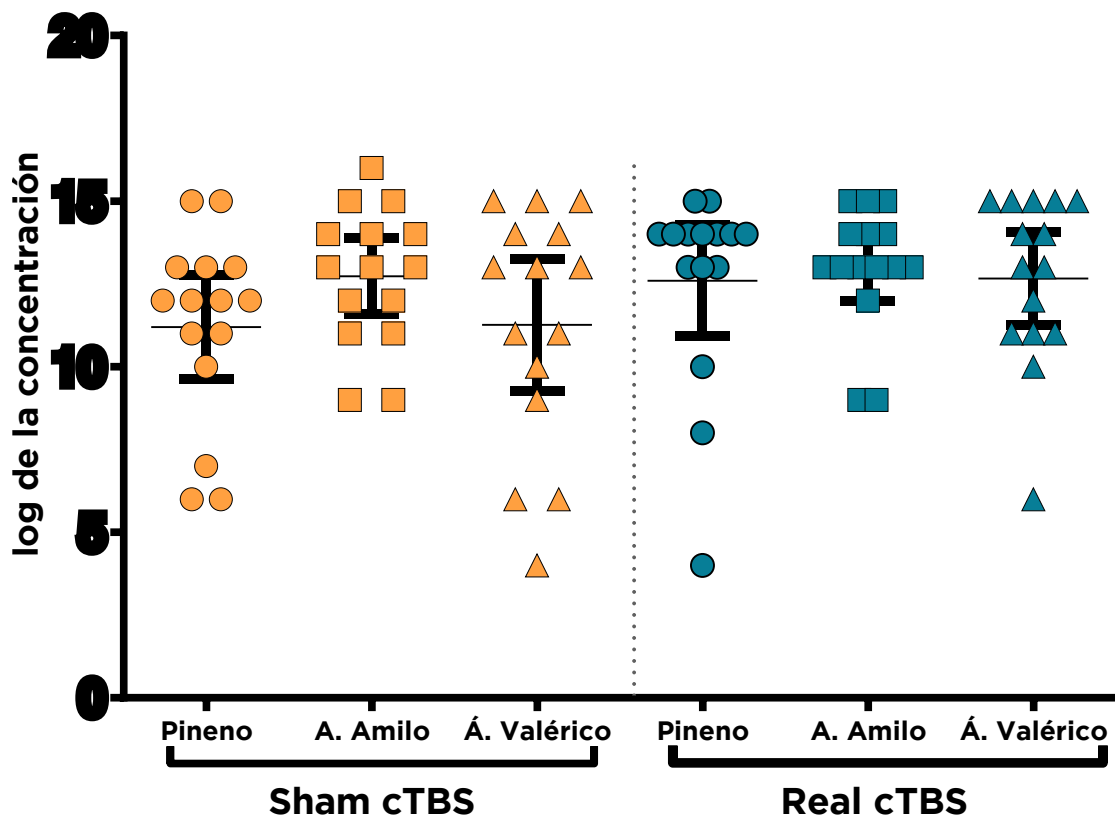
Variables	Sham cTBS	Real cTBS	Valor P
Umbral del pineno (log de concentración).	11.20 ± 2.86	12.60 ± 3.02	0.273
Umbral del acetato de amilo (log de concentración).	12.73 ± 2.09	13.00 ± 1.85	0.644
Umbral del ácido valérico (log de concentración).	11.27 ± 3.59	12.67 ± 2.55	0.142
Valencia del pineno (mm).	-0.25 ± 2.54	-1.22 ± 2.54	0.176
Valencia del acetato de amilo (mm).	0.17 ± 2.54	0.53 ± 2.54	0.484
Valencia del ácido valérico (mm).	-0.56 ± 2.07	-0.98 ± 2.38	0.487
AMT (%).	37.53 ± 5.94	37.93 ± 6.30	0.764
Aciertos basales en prueba olfatoria.	4.87 ± 1.06	5.53 ± 1.13	0.106
<b>Aciertos post estimulación en prueba olfatoria.</b>	<b>5.60 ± 0.91</b>	<b>4.73 ± 1.16</b>	<b>0.022*</b>
<b>Go/no-Go task.</b>	<b>1.20 ± 1.37</b>	<b>2.07 ± 1.91</b>	<b>0.007*</b>

Todos los resultados son representados con la media y las desviaciones estándar. Los valores de P calculados corresponden a pruebas t de student para muestras pareadas. Valores de p menores a 0.05 fueron considerados como estadísticamente significativos.



La prueba t de student para muestras pareadas se utilizó para evaluar si existía una diferencia estadísticamente significativa entre los errores cometidos en la Go/no-go task en la condición de cTBS real comparado con la condición de cTBS sham. No existieron valores atípicos en los datos (ningún dato fue más grande que 1.5 veces la longitud de los boxplots). La diferencia de errores en la condición real y sham cumplieron la suposición de normalidad evaluada por la prueba de Shapiro-Wilk's ( $p = 0.246$ ) y las gráficas Q-Q. Los participantes del estudio tuvieron más errores en la cTBS real ( $2.06 \pm 1.91$  errores) comparados con la cTBS sham ( $1.20 \pm 1.37$  errores). Esto fue interpretado como un incremento estadísticamente significativo de 0.87 (95% CI, 0.28 a 1.45) errores en la condición real cTBS,  $t(14) = 3.166$ ,  $p = 0.007$  y  $d = 0.82$  (Figura 30).

## Umbral de Detección Olfatoria



**FIGURA 27. UMBRALES DE DETECCIÓN OLFATORIA DE CADA UNO DE LOS ODORANTES EN AMBAS SESIONES.**

En el eje vertical se encuentra graficada la concentración del umbral de detección olfatorio para cada uno de los sujetos. No se encontraron diferencias significativas entre odorantes y entre condiciones.

# Valencia de Odorantes

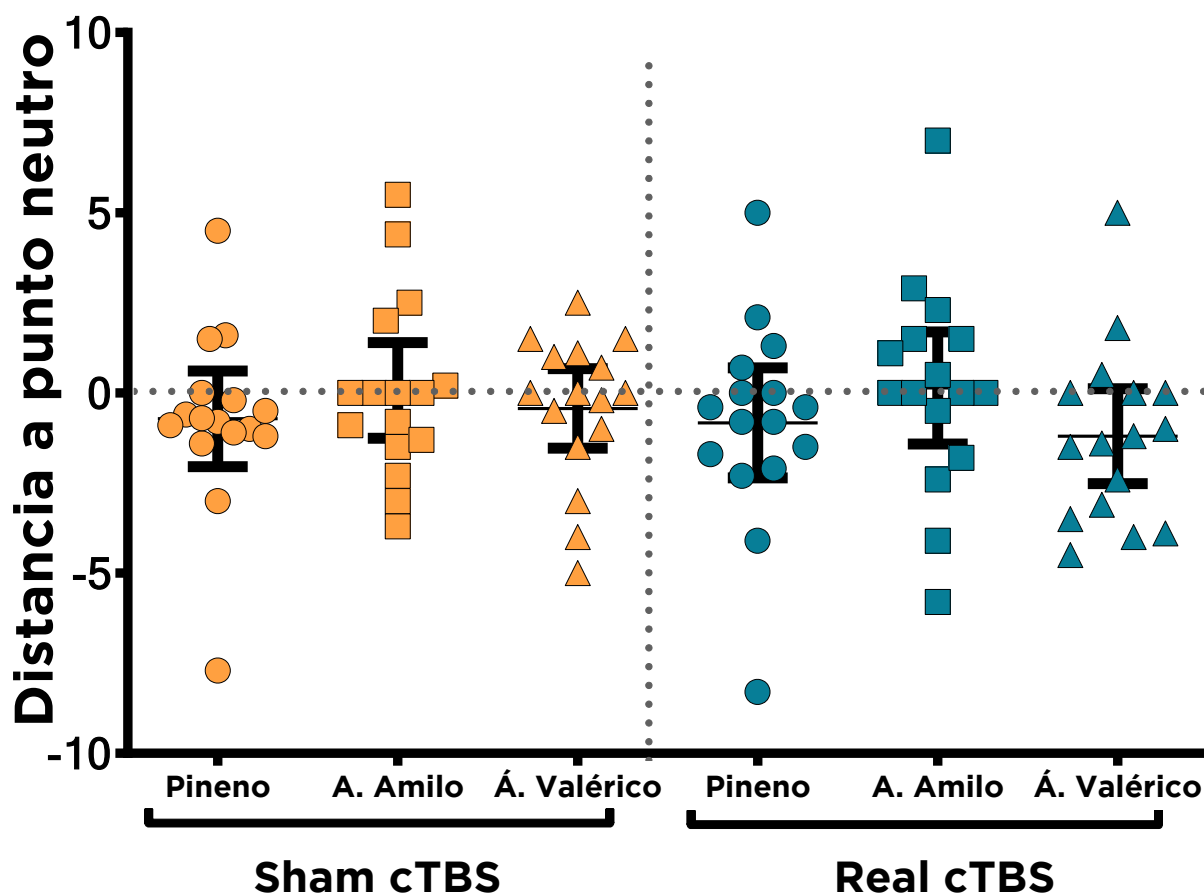
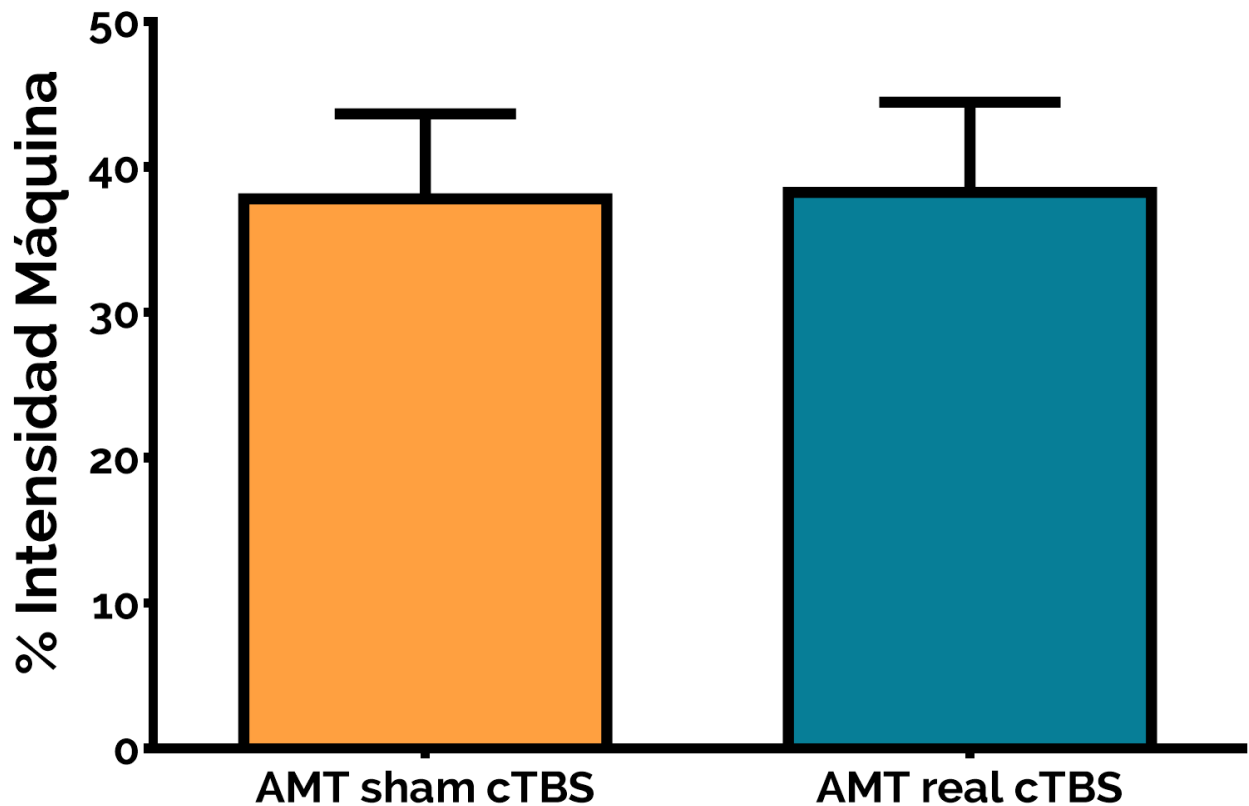


FIGURA 28. VALENCIA DE LOS ODORANTES EN LAS DOS DIFERENTES SESIONES.

En el eje vertical se encuentra la distancia marcada por cada uno de los sujetos con respecto al punto de neutralidad (ni agradable, ni desagradable). La mayoría de los sujetos identificaron una valencia neutra en los odorantes utilizados. No existe diferencia estadísticamente significativa entre condiciones y entre odorantes.

# Umbral Motor en Activación

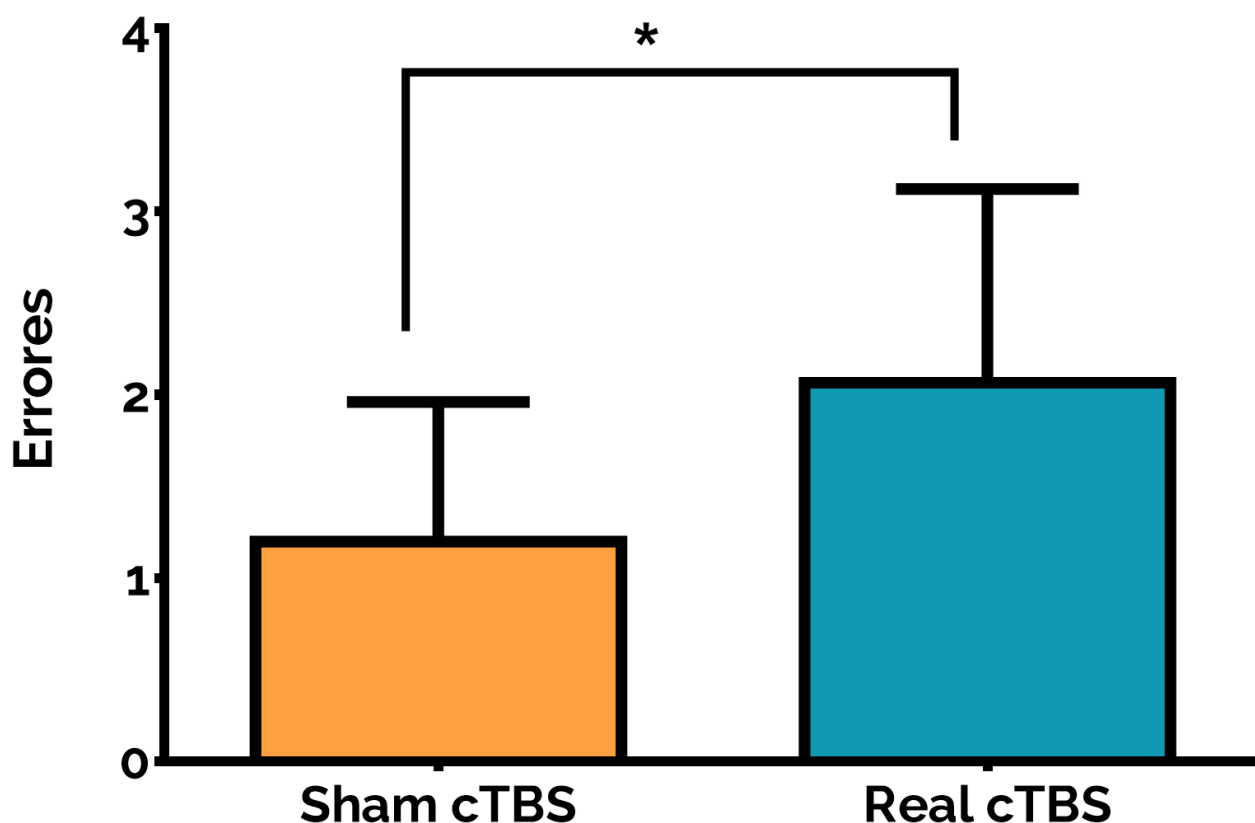


**FIGURA 29. UMBRAL MOTOR DE ACTIVACIÓN EN AMBAS SESIONES.**

No existe diferencia estadísticamente significativa del umbral motor de activación entre condiciones.

Debido a que la Go/no-go task debería de reflejar la función de la COF derecha, hipotetizamos que el número de errores en la Go/no-go task tras la cTBS real debería de correlación con el número de errores en la prueba de percepción consciente olfatoria tras la aplicación de cTBS real. Una prueba de correlación de Spearman fue utilizada para confirmar esta hipótesis, sin embargo, ninguna correlación fue encontrada entre las variables  $r_s(13) = 0.142$  y  $p = 0.613$ .

## Errores Totales en Go/No-Go Task



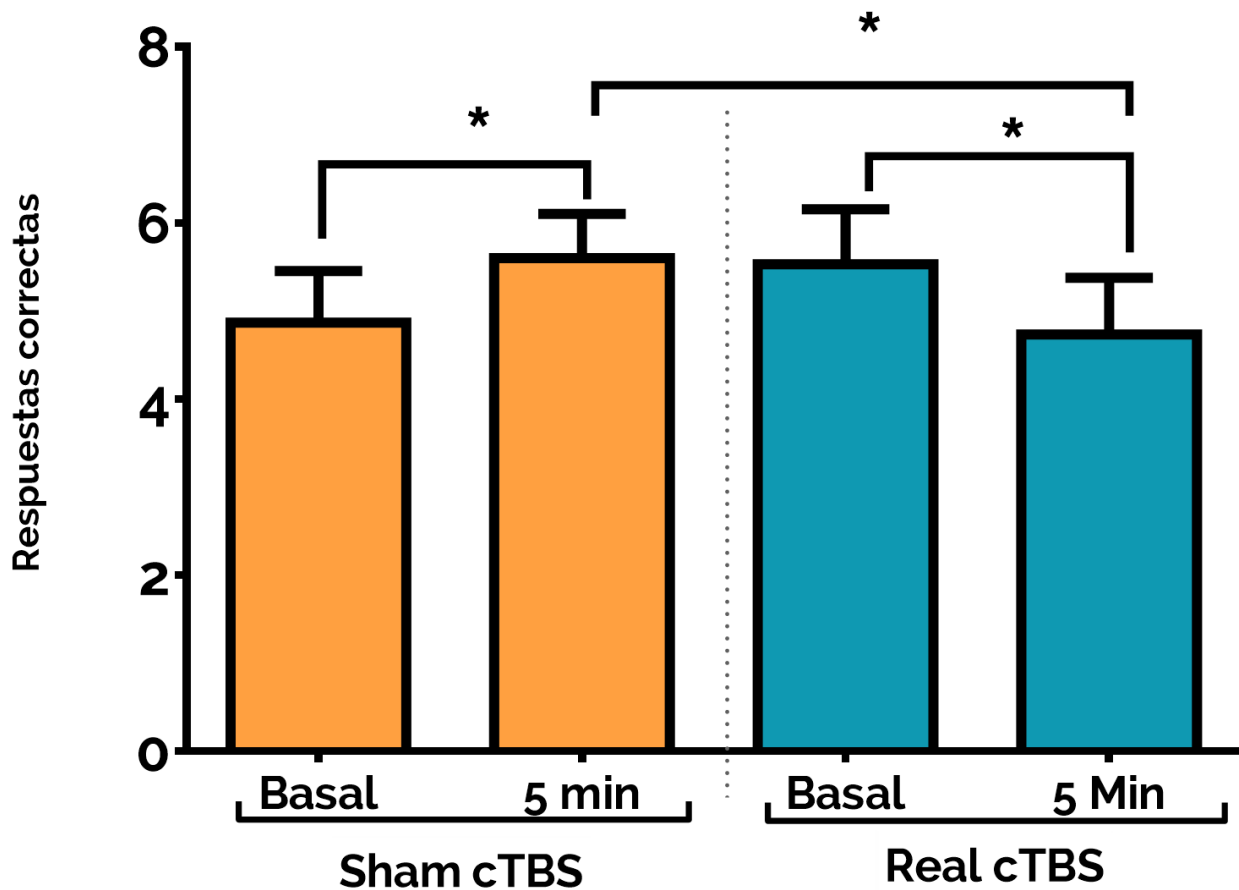
**FIGURA 30. ERRORES TOTALES EN LA GO/NO-GO TASK.**

Existe una cantidad significativamente estadística mayor de errores en la condición real cTBS. La gráfica muestra medias e intervalos de confianza al 95%. \* Significancia estadística de  $p < 0.05$ .

La puntuación de la prueba de percepción consciente olfatoria en cada una de las condiciones se encuentra en la **Figura 31**. Una ANOVA de medidas repetidas y de dos vías fue realizada para determinar el efecto de cTBS entre los puntos basales y post estimulación en la COF derecha. Utilizando residuos estandarizados, ningún punto anómalo fue encontrado en nuestros datos (valores  $\pm 3$  desviaciones estándares se consideraron como anómalos). Las puntuaciones de la prueba olfatoria de consciencia se distribuyeron normalmente al ser evaluadas por la prueba de Shapiro-Wilk ( $p > 0.05$ ), excepto en la condición CTBS basal ( $p = 0.018$ ); sin embargo, las gráficas Q-Q y los diagramas de caja

mostraron simetría en los datos no normales, por lo que no se realizó ninguna normalización a los datos.

Una interacción significativa de dos vías entre el tipo de estimulación cTBS (sham vs real) y el tiempo (basal vs post estimulación) se encontró en el número de respuestas correctas en la prueba de percepción consciente olfatoria ( $F(1, 14) = 25.020, p < 0.0005, \eta^2 = 0.641$ ). Los efectos principales observados para el tiempo y tipo de cTBS no demostraron significancia estadística.

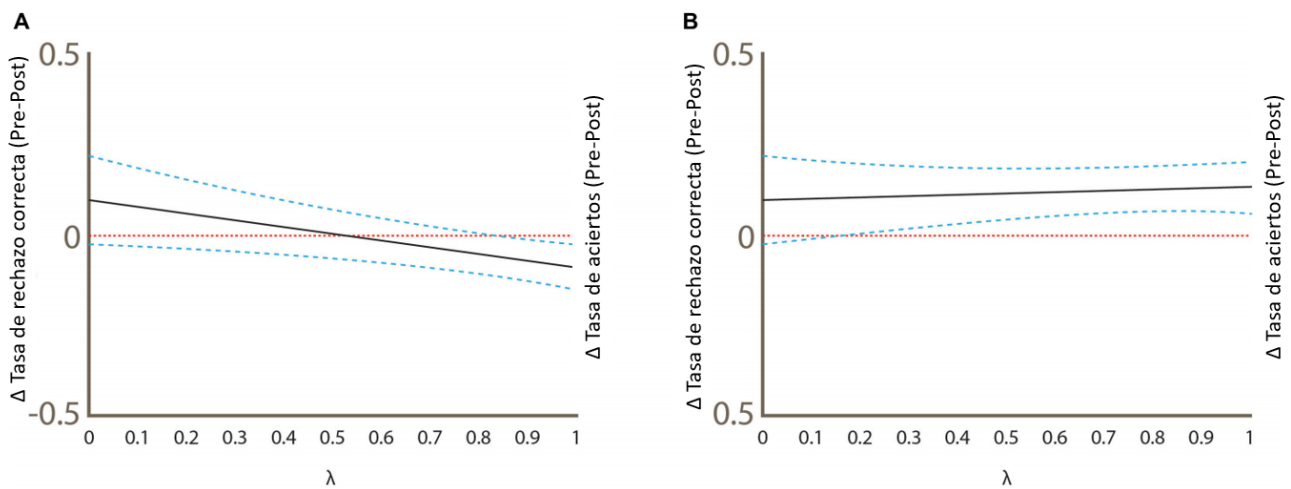


**FIGURA 31. RESPUESTAS CORRECTAS EN PRUEBA DE PERCEPCIÓN CONSCIENTE OLFATORIA.**

Mientras que en la estimulación sham observamos una mejoría estadísticamente significativa en el desempeño de las pruebas olfatorias en la segunda evaluación, en la estimulación real vemos el patrón opuesto: existe una disminución estadísticamente significativa en el número de respuestas correctas comparado con el basal. La gráfica muestra medias e intervalos de confianza al 95%. \* Significancia estadística de  $p < 0.05$ .

La interacción observada fue posteriormente analizada utilizando pruebas t de student para muestras pareadas. Dado que se realizarían múltiples pruebas para los efectos principales simples, el criterio de significancia fue ajustado a  $p < 0.025$ . Las diferencias entre las respuestas correctas en el tiempo basal entre la condición sham cTBS ( $4.86 \pm 1.06$  respuestas correctas) y cTBS real ( $5.56 \pm 1.12$  respuestas correctas) no fueron estadísticamente significativas ( $t(14) = -1.726, p = 0.106$ ). Esto se modificó tras la intervención dado que las respuestas correctas tras la aplicación de sham cTBS ( $5.60 \pm 0.91$  respuestas correctas) fueron estadísticamente diferentes a las respuestas correctas tras la CTBS real ( $4.73 \pm 1.16, t(14) = 2.578, p = 0.022$ ).

El tiempo afectó el desempeño de la prueba tanto en la sesión sham como la sesión real pero en direcciones opuestas: las respuestas correctas pre intervención ( $4.86 \pm 1.06$  respuestas correctas) fueron estadísticamente diferentes a las post intervención en la condición sham ( $5.60 \pm 0.91$  respuestas correctas),  $t(14) = -2.955, p = 0.010$ , mientras que las respuestas correctas en la condición real pre intervención ( $5.56 \pm 1.12$  respuestas correctas) fueron estadísticamente diferentes que las respuestas post intervención ( $4.73 \pm 1.16$  respuestas correctas),  $t(14) = -2.703, p = 0.017$ .



**FIGURA 32. ANÁLISIS GRÁFICO DE HIT RATE Y CORRECT REJECTION RATE ENTRE CONDICIONES.**

A) Sham cTBS B) real cTBS. El delta de la tasa de aciertos se modifica estadísticamente entre condiciones (95% CI no toca el cero).

La **Figura 32** muestra el análisis gráfico de la tasa de aciertos y la tasa de rechazo correcta entre condiciones. La diferencia entre basal y post estimulación en la condición sham fue estadísticamente significativo para la tasa de aciertos ( $\Delta = -0.0889$  %, 95% CI, -0.151 a -0.026 %; **Figura 32**), mientras que la diferencia entre basal y post estimulación de la tasa de rechazo correcta no lo fue ( $\Delta = 0.100$  %, 95% CI, -0.025 a 0.221 %; **Figura 32A**). En la condición de cTBS real, la diferencia entre la tasa de aciertos basal y post cTBS fue estadísticamente significativo, pero en dirección opuesta ( $\Delta = 0.133$  %, 95% CI, 0.0594 a 0.205 %; **Figura 32B**), mientras que la tasa de rechazo correcta fue nuevamente no significativa ( $\Delta = 0.100$  %, 95% CI, -0.024 a 0.2187 %; **Figura 32B**).

# Discusión de resultados

La integración de la COF derecha en el paradigma actual de la percepción consciente no es una tarea sencilla. Diversos argumentos sugieren que la COF derecha es el substrato neural para la percepción consciente olfatoria:

- La COF derecha es una estructura neocortical. Otras modalidades sensoriales en donde ha sido aislados correlatos neurológicos de la consciencia se localizan en la neocorteza<sup>168</sup>.
- La COF derecha tiene una conexión funcional con el tálamo<sup>72</sup>. El tálamo es considerado como una estructura necesaria para que aparezcan experiencias conscientes por diversas teorías de la consciencia<sup>169,170</sup>.
- La COF derecha tiene función de integración multimodal<sup>171</sup>. Las experiencias conscientes son un fenómeno complejo y multimodal<sup>172</sup> ; por tanto, la COF derecha puede fungir este rol para la modalidad olfatoria.
- Estudios de neuroimagen y lesiones han mostrado que la actividad de la COF derecha correlaciona mejor con la percepción consciente que cualquier otra estructura olfatoria<sup>153</sup>.

Previamente, Li y cols., reportaron un sujeto con una lesión selectiva de la COF derecha en el cual la percepción consciente olfatoria se encontraba eliminada. La integridad del resto de las estructuras olfatorias neurales fue corroborada con neuroimagen y el sujeto aún era capaz de integrar estímulos inconscientes; este estudio provee gran apoyo a la hipótesis de que la COF derecha es el correlato neurológico de la consciencia<sup>75</sup>. Sin embargo, es imposible de determinar si el cambio en la función neuronal es una consecuencia directa de la lesión o secundario a la plasticidad cerebral post lesión <sup>173</sup>.

Nuestros resultados apoyan la hipótesis que la COF derecha es un nodo importante de una red neural compleja, necesaria para que la percepción olfatoria consciente exista. Medido por la prueba diseñada, cTBS sobre COF derecha disminuye la percepción consciente olfatoria al existir una interacción entre el tiempo y el tipo de estimulación. Esto se puede interpretar como un efecto cruzado: el efecto del tiempo en las respuestas fue opuesto dependiendo del tipo de estimulación recibida. El número de aciertos mejoró con respecto al basal en la condición sham, mientras que el patrón contrario fue observado en



con la condición real. Este resultado además fue corroborado por la teoría de detección de señales: el *hit rate* aumentó tras la aplicación de sham cTBS comparándolo con basal, mientras que disminuyó tras la aplicación de cTBS real. El *hit rate* es una proporción entre los aciertos (verdaderos positivos) y el número de estímulos odorantes presentados en cada sesión; esto significa que la cTBS afectó el número de aciertos que los sujetos tuvieron. El *correct rejection rate* no fue afectado en ninguna de las condiciones.

La mejoría en la respuesta correcta tras la aplicación de sham cTBS puede ser atribuida a un proceso de aprendizaje o a una sensibilidad aumentada a los odorantes; la exposición repetida de odorantes puede causar plasticidad dependiente de la experiencia en la COF y corteza piriforme<sup>67</sup>. En un estudio de Huang y cols., se encontró que la cTBS genera una respuesta cerebral parecida a la LTD<sup>34</sup>. A través de este mecanismo, la cTBS pudo afectar la plasticidad normal de la COF derecha. Por tanto, de acuerdo con estos estudios, la disminución en la puntuación observada en este protocolo podría deberse a una falla en el proceso de aprendizaje y no necesariamente a una falla de la percepción consciente. No obstante, los estudios que muestran un incremento en la plasticidad de la COF tras la exposición repetida de odorantes utilizaron concentración de odorantes mucho más altas y la prueba consistía en evaluar la similitud entre odorantes, no la presencia o ausencia de estos. Si los efectos observados en nuestro experimento fueran debido a la interrupción de un proceso de aprendizaje, no solo la COF derecha, sino también la COF izquierda y la corteza piriforme tendrían que verse visto afectadas por la cTBS, lo cual permanece poco probable debido a la alta focalidad de la cTBS<sup>34</sup>.

La atención a estímulos odorantes incrementa la conectividad del núcleo medio dorsal del tálamo con la COF<sup>72</sup>. La disrupción de la actividad de la COF derecha pudo haber condicionado una disfunción del circuito tálamo-COF y por tanto afectar el desempeño en la prueba debido a una falla en la atención. Para prevenir esta limitante, los sujetos eran instruidos a empezar a oler tras una señal auditiva; Es poco probable que una disminución en la atención pudiera afectar nuestros resultados debido a que la percepción consciente olfatoria puede surgir con mínima atención <sup>174</sup>.

Debido a que una concentración muy baja de estímulos odorantes podría disminuir la percepción consciente olfatoria por una infra estimulación y que concentraciones altas de odorante pueden producir habituación del estímulo<sup>69</sup>, se individualizó la concentración de cada odorante para cada uno

de los sujetos. La concentración utilizada en cada experimento fue la obtenida en el ODT de cada sesión. Las ODT de nuestros sujetos no cambiaron entre sesiones; por tanto, la probabilidad de sesgo debido a este factor es reducida. Sin embargo, el rol de la COF derecha en la habituación es más complejo; Poellinger y cols., mostró que la COF derecha medía la habituación de arriba abajo del sistema olfatorio<sup>153</sup>. Dados estos reportes, la posibilidad de que nuestros resultados sean explicados por un incremento en la habituación causados por la disrupción de la COF derecha no pueden ser descartados. Sin embargo, en lo publicado por Poellinger se utilizaron estímulos de larga duración (cuando menos 60 s), mientras que los estímulos utilizados en el presente estudio fueron de apenas 5 s.

Estímulos odorantes con alto contenido emocional afectan las funciones olfatorias de la COF derecha<sup>175</sup>. Para prevenir sesgos debido a la respuesta emocional provocada por los odorantes, tres odorantes con tres diferentes valencias fueron elegidos. Sorpresivamente, la mayoría de los sujetos evaluaron la valencia de los odorantes cerca del cero (un olor neutro, ni agradable ni desagradable) y no se encontraron diferencias entre las sesiones. Esto puede ser explicado por las bajas concentraciones en la que los odorantes fueron administrados, ya que estímulos a concentraciones bajas evocan respuestas hedónicas bajas<sup>176</sup>.

La disrupción de la actividad de la COF en primates no humanos <sup>117</sup> y humanos afecta negativamente el desempeño en la Go/no-go task<sup>157</sup>. Para asegurarnos que la cTBS tenía un efecto sobre la COF derecha, usamos el desempeño en la Go/no-go task como una medida subrogada de la correcta aplicación de cTBS. Los sujetos tuvieron más errores en la condición de cTBS real comparado con la sham cTBS, lo que indica que existió desinhibición motora en la condición de cTBS real. La COF ha sido relacionada con la toma de decisiones ante estímulos olfatorios ambiguos<sup>177</sup>. Por tanto, la desinhibición motora y la habilidad reducida para reconocer estímulos odorantes podría explicar nuestros resultados. Sin embargo, más experimentos son necesarios para confirmar esta hipótesis.

Existen otras limitantes para nuestro estudio:

No se tuvo acceso a un método de neuroimagen que corroborara la inhibición metabólica de la COF derecha; aunque la Go/no-go task puede subsanar esta limitante, estudios que combinen neuroimagen y TMS son necesarios.

No se valoró la implicación de lateralización cerebral en el fenómeno estudiado; el paradigma actual implica la COF derecha y no así la izquierda en la percepción consciente olfatoria. Sin embargo, esta aseveración podría ser explicada por un sesgo común en neurociencias: la mayoría de los estudios únicamente incluye sujetos diestros. Se requiere más estudios explorando cambios entre la COF izquierda vs derecha, presentación unilateral de odorantes e inclusión de sujetos zurdos son necesarios para clarificar el papel de la lateralización en la función de la COF sobre la percepción consciente odorante.

Dos terceras partes de nuestra muestra fueron mujeres; esto podría implicar un sesgo y un obstáculo para la validez externa del estudio. Es bien sabido que las mujeres tienen una sensibilidad diferente a los hombres para la olfacción y esta sensibilidad puede ser modificada por el ciclo menstrual y pastillas anticonceptivas<sup>178,179</sup>. Estos factores no fueron controlados en el presente estudio. Se requieren de tamaños de la muestra mayores para describir acertadamente si el sexo de los sujetos afecta el rol de la COF derecha en la percepción consciente a estímulos odorantes.

Existen diversas aplicaciones potenciales de nuestro estudio. La aplicación de cTBS sobre la COF derecha podría ser útil en el tratamiento de fantosmias. Las fantosmias son alucinaciones olfatorias en cuales los sujetos reportan oler un odorante no presente. Actualmente existe una falta de consenso sobre cuál debería ser el tratamiento ideal de esta condición<sup>180</sup>. El presente estudio muestra que la cTBS sobre la COF derecha disminuye la percepción consciente a estímulos odorantes y por tanto podría beneficiar a los sujetos que sufren fantosmias.

# Conclusiones

La investigación previa con estudios de neuroimagen y lesiones cerebrales mostraron que la actividad de la COF derecha se encuentra correlacionada con la percepción consciente a estímulos odorantes. En el presente estudio se confirma esta relación y también se mostró que existe un patrón temporal que determina esta relación. Sin embargo, nuestros resultados deben ser leídos con cautela; existen muchas funciones cognitivas olfatorias atribuidas a la COF derecha. Por tanto, más experimentos específicamente diseñados para evaluar aprendizaje, atención, habituación e integración multimodal olfatoria se necesitan para correctamente disecar como es que la cTBS afecta el gran espectro de funciones olfatorias. El mecanismo exacto que explique nuestros resultados no es claro y podría ser explicado por la disrupción de otras funciones cognitivas relacionadas con la COF derecha y no directamente a la percepción consciente.

En el presente estudio se utilizaron parámetros inhibitorios de TMS; por lo que se hipotetizó que el efecto de la TMS sería una pérdida de la función que la actividad de la COF, lo cual fue confirmado experimentalmente. Sin embargo, la TMS también puede aumentar la actividad de un área y este caso específico no ha sido intentado experimentalmente. El aumento de la actividad de la COF podría generar diversos efectos conductuales:

- Un incremento en la capacidad de percepción olfatoria consciente, que se podría ver reflejado en una disminución del umbral de detección olfatorio. Esta consecuencia podría dar pie a un tratamiento adyuvante en la hiposmia central.
- Una disminución en la capacidad de percepción olfatoria consciente, debido a una disrupción en la actividad ordenada de la COF.

La estimulación magnética transcraneal no es la única técnica que existe para modificar la actividad de la corteza cerebral. Diversas técnicas de neuromodulación, tanto invasivas como no invasivas, permiten inhibir o activar ciertas áreas cerebrales. Dentro de estas técnicas de neuromodulación, la estimulación transcraneal con corriente directa podría representar una alternativa a la estimulación magnética transcraneal; esto debido a su facilidad de uso y a la posibilidad de generar cambios en la excitabilidad

similares a la estimulación magnética. Nuevos estudios con esta técnica deberían de proveer de más evidencia con respecto al papel de la COF en la percepción consciente olfatoria.

El presente estudio abre una nueva línea de investigación con respecto a los correlatos neurológicos de la consciencia olfatoria. Diversas técnicas neurofisiológicas podrían utilizarse para complementar los resultados obtenidos; dentro de estas técnicas, los potenciales evocados olfatorios podrían ofrecer más información sobre la actividad eléctrica cerebral desencadenada por un estímulo olfatorio. Los potenciales evocados visuales, específicamente la deflexión positiva a los 300 ms, han sido relacionados con la percepción consciente visual. La utilización de esta técnica neurofisiológica podría ayudar a encontrar una señal análoga en el sistema olfatorio.

Además de los potenciales evocados, el electroencefalograma ofrece la posibilidad de determinar coherencia entre electrodos en ciertas bandas. La coherencia en banda gamma ha sido relacionada con la percepción consciente en otras modalidades sensoriales (visual) y se creen es de vital importancia en el sistema olfatorio<sup>172</sup>. La combinación de una técnica de neuromodulación con una técnica de neuroimagen como el electroencefalograma podría dar información relevante para entender cómo es que la estimulación magnética transcraneal afecta la percepción consciente y por tanto los mecanismos mediante los cuales los correlatos neurológicos de la consciencia se relación con la misma.

Con respecto a las teorías de la consciencia actuales, el presente estudio parece aportar más evidencia a que la corteza cerebral es necesaria para que la percepción consciente sensorial se lleve a cabo. De igual manera, refuerza la teoría que las conexiones tálamo corticales son importantes para la percepción consciente debido a que la corteza orbitofrontal se encuentra conectada al núcleo medio dorsal del tálamo. Más estudios, específicamente estudios donde la COF se encuentre intacta y exista un daño aislado de la corteza piriforme, se requieren para confirmar que es la COF el nodo necesario para que la percepción consciente olfatoria se lleve a cabo.

# Referencias

1. Laureys, S. The neural correlate of (un)awareness: lessons from the vegetative state. *Trends Cogn. Sci.* **9**, 556–559 (2005).
2. Revonsuo, A. *Consciousness: The Science of Subjectivity*. (Psychology Press, 2009).
3. Nagel, T. What Is It Like to Be a Bat? *Philos. Rev.* **83**, 435 (1974).
4. Dennett, D. C. Quining qualia. in *Consciousness in modern science* (Oxford University Press, 1988).
5. De Brigard, F. & Prinz, J. Attention and consciousness. *Wiley Interdiscip. Rev. Cogn. Sci.* **1**, 51–59 (2010).
6. Chalmers, D. J. Facing Up to the Problem of Consciousness. *J. Conscious. Stud.* **2**, 200–219 (1995).
7. Frith, C. & Rees, G. A Brief History of the Scientific Approach to the Study of Consciousness. in *The Blackwell Companion to Consciousness* 7–22 (Blackwell Publishing, 2007). doi:10.1002/9780470751466.ch2
8. Levine, J. Materialism and qualia: the explanatory gap. *Pacific Philos. Q.* **64**, 354–361 (1983).
9. Koch, C. *The quest for consciousness : a neurobiological approach*. (Roberts and Co, 2004).
10. Crick, F. & Koch, C. Towards a neurobiological theory of consciousness. in *Seminars in the Neurosciences* **2**, 263–275 (Saunders Scientific Publications, 1990).
11. Sergent, C., Baillet, S. & Dehaene, S. Timing of the brain events underlying access to consciousness during the attentional blink. *Nat. Neurosci.* **8**, 1391–1400 (2005).
12. Rangarajan, V. *y cols*. Electrical stimulation of the left and right human fusiform gyrus causes different effects in conscious face perception. *J. Neurosci.* **34**, 12828–36 (2014).
13. Théoret, H., Kobayashi, M., Ganis, G., Di Capua, P. & Pascual-Leone, A. Repetitive transcranial magnetic stimulation of human area MT/V5 disrupts perception and storage of the motion aftereffect. *Neuropsychologia* **40**, 2280–7 (2002).
14. Koch, C., Massimini, M., Boly, M. & Tononi, G. Neural correlates of consciousness: progress and problems. *Nat. Rev. Neurosci.* **17**, 395–395 (2016).
15. Hunter Peckham, P., Rezai, A. & Aboelsaad, F. What Is Neuromodulation? *Neuromodulation* 3–8 (2009). doi:10.1016/B978-0-12-374248-3.00002-1
16. Al-Harbi, K. S. & Qureshi, N. A. Neuromodulation therapies and treatment-resistant depression.

- Med. Devices (Auckl)*. **5**, 53–65 (2012).
17. Kobayashi, M. & Pascual-Leone, A. Transcranial magnetic stimulation in neurology. TL - 2. *Lancet Neurol*. **2**, 145–156 (2003).
  18. Miranda, P. C. *Physics of effects of transcranial brain stimulation*. *Handbook of Clinical Neurology* **116**, (Elsevier B.V., 2013).
  19. Barker, A. T., Jalinous, R. & Freeston, I. L. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet (London, England)* **1**, 1106–7 (1985).
  20. Pascual-Leone, A., Gates, J. R. & Dhuna, A. Induction of speech arrest and counting errors with rapid-rate transcranial magnetic stimulation. *Neurology* **41**, 697–702 (1991).
  21. Pascual-Leone, A., Rubio, B., Pallardó, F. & Catalá, M. D. Rapid-rate transcranial magnetic stimulation of left dorsolateral prefrontal cortex in drug-resistant depression. *Lancet (London, England)* **348**, 233–7 (1996).
  22. Wassermann, E. M. Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, June 5-7, 1996. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* **108**, 1–16 (1998).
  23. Valero-Cabré, A., Payne, B. R. & Pascual-Leone, A. Opposite impact on 14C-2-deoxyglucose brain metabolism following patterns of high and low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation in the posterior parietal cortex. *Exp. Brain Res.* **176**, 603–615 (2007).
  24. Loo, C. K. *y cols*. High (15 Hz) and low (1 Hz) frequency transcranial magnetic stimulation have different acute effects on regional cerebral blood flow in depressed patients. *Psychol. Med.* **33**, 997–1006 (2003).
  25. Huang, Y. Z., Edwards, M. J., Rounis, E., Bhatia, K. P. & Rothwell, J. C. Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron* **45**, 201–206 (2005).
  26. Huang, Y.-Z., Edwards, M. J., Rounis, E., Bhatia, K. P. & Rothwell, J. C. Theta Burst Stimulation of the Human Motor Cortex. *Neuron* **45**, 201–206 (2005).
  27. Cárdenas-Morales, L., Grön, G. & Kammer, T. Exploring the after-effects of theta burst magnetic stimulation on the human motor cortex: A functional imaging study. *Hum. Brain Mapp.* **32**, 1948–1960 (2011).
  28. Hanlon, C. A. *y cols*. Left frontal pole theta burst stimulation decreases orbitofrontal and insula

- activity in cocaine users and alcohol users. *Drug Alcohol Depend.* **178**, 310–317 (2017).
29. Oberman, L., Edwards, D., Eldaief, M. & Pascual-Leone, A. Safety of Theta Burst Transcranial Magnetic Stimulation: A Systematic Review of the Literature. *J. Clin. Neurophysiol.* **28**, 67–74 (2011).
  30. Brückner, S., Kiefer, M. & Kammer, T. Comparing the after-effects of continuous theta burst stimulation and conventional 1Hz rTMS on semantic processing. *Neuroscience* **233**, 64–71 (2013).
  31. Chervyakov, A. V., Chernyavsky, A. Y., Sinitsyn, D. O. & Piradov, M. A. Possible Mechanisms Underlying the Therapeutic Effects of Transcranial Magnetic Stimulation. *Front. Hum. Neurosci.* **9**, 1–14 (2015).
  32. Klomjai, W., Katz, R. & Lackmy-Vallée, A. Basic principles of transcranial magnetic stimulation (TMS) and repetitive TMS (rTMS). *Ann. Phys. Rehabil. Med.* **58**, 208–213 (2015).
  33. Poh, E. Z. *y cols.* Simultaneous quantification of dopamine, serotonin, their metabolites and amino acids by LC-MS/MS in mouse brain following repetitive transcranial magnetic stimulation. *Neurochem. Int.* **131**, 104546 (2019).
  34. Huang, Y.-Z. Z., Chen, R.-S. S., Rothwell, J. C. & Wen, H.-Y. Y. The after-effect of human theta burst stimulation is NMDA receptor dependent. *TL - 118. Clin. Neurophysiol.* **118 VN-**, 1028–1032 (2007).
  35. Lan, M. J., Chhetry, B. T., Liston, C., Mann, J. J. & Dubin, M. Transcranial Magnetic Stimulation of Left Dorsolateral Prefrontal Cortex Induces Brain Morphological Changes in Regions Associated with a Treatment Resistant Major Depressive Episode: An Exploratory Analysis. *Brain Stimul.* **9**, 577–83 (2016).
  36. Luo, J. *y cols.* High-Frequency Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (rTMS) Improves Functional Recovery by Enhancing Neurogenesis and Activating BDNF/TrkB Signaling in Ischemic Rats. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, 455 (2017).
  37. Guo, F., Lou, J., Han, X., Deng, Y. & Huang, X. Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation Ameliorates Cognitive Impairment by Enhancing Neurogenesis and Suppressing Apoptosis in the Hippocampus in Rats with Ischemic Stroke. *Front. Physiol.* **8**, 559 (2017).
  38. Ren, W., Ma, J., Li, J., Zhang, Z. & Wang, M. Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (rTMS) Modulates Lipid Metabolism in Aging Adults. *Front. Aging Neurosci.* **9**, 334 (2017).



39. Claudino, A. M. *et al.* Repetitive transcranial magnetic stimulation reduces cortisol concentrations in bulimic disorders. *Psychol. Med.* **41**, 1329–1336 (2011).
40. Kito, S., Hasegawa, T., Fujita, K. & Koga, Y. Changes in hypothalamic–pituitary–thyroid axis following successful treatment with low-frequency right prefrontal transcranial magnetic stimulation in treatment-resistant depression. *Psychiatry Res.* **175**, 74–77 (2010).
41. Sparing, R. *y cols.* Visual cortex excitability increases during visual mental imagery--a TMS study in healthy human subjects. *Brain Res.* **938**, 92–97 (2002).
42. Priori, A., Hallett, M. & Rothwell, J. C. Repetitive transcranial magnetic stimulation or transcranial direct current stimulation? *Brain Stimul.* **2**, 241–245 (2009).
43. Walsh, V. & Cowey, A. Transcranial magnetic stimulation and cognitive neuroscience. *Nat. Rev. Neurosci.* **1**, 73–9 (2000).
44. Pascual-Leone, A., Walsh, V. & Rothwell, J. Transcranial magnetic stimulation in cognitive neuroscience-virtual lesion, chronometry, and functional connectivity. *Curr. Opin. Neurobiol.* **10**, 232–7 (2000).
45. Lowe, C. J., Manocchio, F., Safati, A. B. & Hall, P. A. The effects of theta burst stimulation (TBS) targeting the prefrontal cortex on executive functioning: A systematic review and meta-analysis. *Neuropsychologia* **111**, 344–359 (2018).
46. Chung, S. W., Hill, A. T., Rogasch, N. C., Hoy, K. E. & Fitzgerald, P. B. Use of theta-burst stimulation in changing excitability of motor cortex: A systematic review and meta-analysis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **63**, 43–64 (2016).
47. Wu, C.-C. *y cols.* Theta-Burst Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation for Treatment-Resistant Obsessive-Compulsive Disorder With Concomitant Depression. *J. Clin. Psychiatry* **71**, 504–506 (2010).
48. Rotenberg, A., Horvath, J. C. & Pascual-Leone, A. The Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) device and foundational techniques. *NeuroMethods* **89**, 3–13 (2014).
49. Cho, S. S. *y cols.* Continuous theta burst stimulation of right dorsolateral prefrontal cortex induces changes in impulsivity level. *Brain Stimul.* **3**, 170–176 (2010).
50. Hubl, D. *y cols.* Time course of blood oxygenation level–dependent signal response after theta burst transcranial magnetic stimulation of the frontal eye field. *Neuroscience* **151**, 921–928 (2008).

51. Borckardt, J. J. *y cols.* Development and evaluation of a portable sham transcranial magnetic stimulation system. *Brain Stimul.* **1**, 52–59 (2008).
52. Herwig, U. *y cols.* The navigation of transcranial magnetic stimulation. *Psychiatry Res.* **108**, 123–31 (2001).
53. Mazzi, C., Savazzi, S., Abrahamyan, A. & Ruzzoli, M. Reliability of TMS phosphene threshold estimation: Toward a standardized protocol. *Brain Stimul.* **10**, 609–617 (2017).
54. Kamitani, Y. & Shimojo, S. Manifestation of scotomas created by transcranial magnetic stimulation of human visual cortex. *Nat. Neurosci.* **2**, 767–771 (1999).
55. Silvanto, J., Cowey, A. & Walsh, V. Inducing conscious perception of colour in blindsight. *Curr. Biol.* **18**, 950–951 (2008).
56. Niimura, Y. Olfactory Receptor Multigene Family in Vertebrates: From the Viewpoint of Evolutionary Genomics. *Curr. Genomics* **13**, 103–114 (2012).
57. Gross, M. Our sense of smell at the crossroads. *Curr. Biol.* **25**, R173–R176 (2015).
58. Olender, T., Lancet, D. & Nebert, D. W. Update on the olfactory receptor (OR) gene superfamily. *Hum. Genomics* **3**, 87 (2008).
59. Kandel, E. R., Schwartz, J. H. & Jessell, T. M. *Principles of Neural Science. Neurology* **4**, (2013).
60. Zozulya, S., Echeverri, F. & Nguyen, T. The human olfactory receptor repertoire. *Genome Biol* **2**, RESEARCH0018 (2001).
61. Purves, D., Augustine, G. J. & Fitzpatrick, D. *Neuroscience, 5th Edition. Nature Reviews Neuroscience* (2012). doi:978-0878937257
62. Gallarda, B. W. & Lledo, P. M. Adult neurogenesis in the olfactory system and neurodegenerative disease. *Curr Mol Med* **12**, 1253–1260 (2012).
63. Doty, R. L. Handbook of olfaction and gustation. *Handb. olfaction gustation* (2015).
64. Nunes, D. & Kuner, T. Disinhibition of olfactory bulb granule cells accelerates odour discrimination in mice. *Nat. Commun.* **6**, 8950 (2015).
65. Henkin, R. I., Levy, L. M. & Lin, C. S. Taste and smell phantoms revealed by brain functional MRI (fMRI). *J Comput Assist Tomogr* **24**, 106–123 (2000).
66. Mizobuchi, M. *y cols.* Unidirectional olfactory hallucination associated with ipsilateral unruptured intracranial aneurysm. *Epilepsia* **40**, 516–519 (1999).

67. Li, W., Luxenberg, E., Parrish, T. & Gottfried, J. A. Learning to Smell the Roses: Experience-Dependent Neural Plasticity in Human Piriform and Orbitofrontal Cortices. *Neuron* **52**, 1097–1108 (2006).
68. Barnes, D. C., Hofacer, R. D., Zaman, A. R., Rennaker, R. L. & Wilson, D. a. Olfactory perceptual stability and discrimination. *Nat. Neurosci.* **11**, 1378–1380 (2008).
69. Merrick, C., Godwin, C. a., Geisler, M. W. & Morsella, E. The olfactory system as the gateway to the neural correlates of consciousness. *Front. Psychol.* **4**, 1–15 (2014).
70. Staubli, U., Schottler, F. & Nejat-Bina, D. Role of dorsomedial thalamic nucleus and piriform cortex in processing olfactory information. *Behav. Brain Res.* **25**, 117–129 (1987).
71. Stettler, D. D. & Axel, R. Representations of Odor in the Piriform Cortex. *Neuron* **63**, 854–864 (2009).
72. Plailly, J., Howard, J. D., Gitelman, D. R. & Gottfried, J. A. Attention to odor modulates thalamocortical connectivity in the human brain. *J. Neurosci.* **28**, 5257–67 (2008).
73. Tham, W. W. P., Stevenson, R. J. & Miller, L. a. The role of the mediodorsal thalamic nucleus in human olfaction. *Neurocase* **17**, 148–59 (2011).
74. Johnson, D. M. G., Illig, K. R., Behan, M. & Haberly, L. B. New Features of Connectivity in Piriform Cortex Visualized by Intracellular Injection of Pyramidal Cells Suggest that “Primary” Olfactory Cortex Functions Like “Association” Cortex in Other Sensory Systems. *J. Neurosci.* **20**, 6974–6982 (2000).
75. Li, W. *et al.* Right orbitofrontal cortex mediates conscious olfactory perception. *Psychol. Sci. a J. Am. Psychol. Soc. / APS* **21**, 1454–1463 (2010).
76. Kaneda, H. *et al.* Decline in taste and odor discrimination abilities with age, and relationship between gustation and olfaction. *Chem. Senses* **25**, 331–7 (2000).
77. Goel, N. & Grasso, D. J. Olfactory discrimination and transient mood change in young men and women: variation by season, mood state, and time of day. *Chronobiol. Int.* **21**, 691–719 (2004).
78. Guarneros, M., Hudson, R., López-Palacios, M. & Drucker-Colín, R. Reference values of olfactory function for Mexico City inhabitants. *Arch. Med. Res.* **46**, 84–90 (2015).
79. RL, M., PJ, M., RN, M. & RL, D. Olfaction in neurodegenerative disease: A meta-analysis of olfactory functioning in alzheimers and parkinsons diseases. *Arch. Neurol.* **55**, 84–90 (1998).

80. Klimek, L. & Eggers, G. Olfactory dysfunction in allergic rhinitis is related to nasal eosinophilic inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* **100**, 158–164 (1997).
81. Litvack, J. R., Mace, J. C. & Smith, T. L. Olfactory function and disease severity in chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy* **23**, 139–144 (2009).
82. Doty, R. L. Olfactory dysfunction and its measurement in the clinic. *World J. Otorhinolaryngol. Neck Surg.* **1**, 28–33 (2015).
83. Doty, R. L. *The olfactory system and Its disorders. Seminars in Neurology* **29**, 74–81 (2009).
84. Morales-Puebla, J. M. *y cols.* Olfactory rehabilitation after total laryngectomy. *Acta Otorrinolaringol. (English Ed.)* **61**, 128–134 (2010).
85. Doty, R. L. *y cols.* Olfactory dysfunction in patients with head trauma. *Arch Neurol* **54**, 1131–1140 (1997).
86. MacColl, G., Bouloux, P. & Quinton, R. Kallmann syndrome: Adhesion, afferents, and anosmia. *Neuron* **34**, 675–678 (2002).
87. Naik, B. S., Shetty, N. & Maben, E. V. S. Drug-induced taste disorders. *Eur. J. Intern. Med.* **21**, 240–243 (2010).
88. Jafek, B. W., Linschoten, M. R. & Murrow, B. W. Anosmia after intranasal zinc gluconate use. *Am. J. Rhinol.* **18**, 137–41 (2004).
89. Negoias, S. *y cols.* Reduced olfactory bulb volume and olfactory sensitivity in patients with acute major depression. *Neuroscience* **169**, 415–421 (2010).
90. Hüttenbrink, K.-B., Hummel, T., Berg, D., Gasser, T. & Hähner, A. Olfactory dysfunction: common in later life and early warning of neurodegenerative disease. *Dtsch. Arztebl. Int.* **110**, 1–7, e1 (2013).
91. Cecchini, M. P. *y cols.* Olfaction in People with Down Syndrome: A Comprehensive Assessment across Four Decades of Age. *PLoS One* **11**, e0146486 (2016).
92. Takayama, S. & Sasaki, T. Acute hyposmia in type 2 diabetes. *J. Int. Med. Res.* **31**, 466–468 (2003).
93. Ho, W. kuen, Kwong, D. L. W., Wei, W. I. & Sham, J. S. T. Change in olfaction after radiotherapy for nasopharyngeal cancer - A prospective study. *Am. J. Otolaryngol. - Head Neck Med. Surg.* **23**, 209–214 (2002).
94. Doty, R. L. Olfactory dysfunction and its measurement in the clinic. *World J Otorhinolaryngol*

*Head Neck Surg.* (2015).

95. Hawkes, C. Olfaction in neurodegenerative disorder. *Advances in Oto-Rhino-Laryngology* **63**, 133–151 (2006).
96. Ponsen, M. M. *y cols.* Idiopathic hyposmia as a preclinical sign of Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* **56**, 173–81 (2004).
97. Makowska, I., Kloszewska, I., Grabowska, A., Szatkowska, I. & Rymarczyk, K. Olfactory deficits in normal aging and Alzheimer's disease in the polish elderly population. *Arch. Clin. Neuropsychol.* **26**, 270–279 (2011).
98. Erkkinen, M. G., Kim, M.-O. & Geschwind, M. D. Clinical Neurology and Epidemiology of the Major Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **10**, a033118 (2018).
99. Postuma, R. B. & Berg, D. Advances in markers of prodromal Parkinson disease. *Nat. Rev. Neurol.* **12**, 622–634 (2016).
100. Wise, P. M., Olsson, M. J. & Cain, W. S. Quantification of odor quality. *Chem. Senses* **25**, 429–443 (2000).
101. Eibenstein, A. *y cols.* Modern psychophysical tests to assess olfactory function. *Neurological Sciences* **26**, 147–155 (2005).
102. Hummel, T., Sekinger, B., Wolf, S. R., Pauli, E. & Kobal, G. 'Sniffin' Sticks': Olfactory Performance Assessed by the Combined Testing of Odour Identification, Odor Discrimination and Olfactory Threshold. *Chem. Senses* **22**, 39–52 (1997).
103. Yáñez Carlos, Mora Nallely, N. B. Prueba corta de olfato a utilizarse como una prueba de diagnóstico condiable. *G An Med Asoc Med Hosp ABC* **49**, 82–86 (2004).
104. Jackman, A. H. & Doty, R. L. Utility of a three-item smell identification test in detecting olfactory dysfunction. *Laryngoscope* **115**, 2209–12 (2005).
105. Lundström, J. N., Gordon, A. R., Alden, E. C., Boesveldt, S. & Albrecht, J. Methods for building an inexpensive computer-controlled olfactometer for temporally-precise experiments. *Int. J. Psychophysiol.* **78**, 179–189 (2010).
106. Lowen, S. B., Farmer, S. L. & Lukas, S. E. Improved low-cost, MR-compatible olfactometer to deliver tobacco smoke odor. *Behav. Res. Methods* (2016). doi:10.3758/s13428-016-0709-1
107. Chiavaras, M. M. & Petrides, M. Orbitofrontal sulci of the human and macaque monkey brain. *J.*

- Comp. Neurol.* **422**, 35–54 (2000).
108. Gottfried, J. A. & Zald, D. H. On the scent of human olfactory orbitofrontal cortex: meta-analysis and comparison to non-human primates. TL - 50. *Brain Res. Brain Res. Rev.* **50 VN-r**, 287–304 (2005).
  109. Öngür, D., Price, J. L., Ongür, D. & Price, J. L. The Organization of Networks within the Orbital and Medial Prefrontal Cortex of Rats, Monkeys and Humans TL - 10. *Cereb. Cortex* **10 VN-r**, 206–219 (2000).
  110. Petrides, M. & Pandya, D. N. Comparative cytoarchitectonic analysis of the human and the macaque ventrolateral prefrontal cortex and corticocortical connection patterns in the monkey. *Eur. J. Neurosci.* **16**, 291–310 (2002).
  111. Neafsey, E. J. Prefrontal cortical control of the autonomic nervous system: anatomical and physiological observations. *Prog. Brain Res.* **85**, 147–65; discussion 165-6 (1990).
  112. Kling, A. Effects of Amygdalectomy on Social-Affective Behavior in Non-Human Primates. in 511–536 (1972). doi:10.1007/978-1-4615-8987-7\_18
  113. Nauta, W. J. H. The Problem of the Frontal Lobe: A Reinterpretation. in *Neuroanatomy* 540–560 (Birkhäuser Boston, 1993). doi:10.1007/978-1-4684-7920-1\_27
  114. Rolls, E. T. The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain and Cognition* **55**, 11–29 (2004).
  115. Kringelbach, M. L. & Rolls, E. T. The functional neuroanatomy of the human orbitofrontal cortex: Evidence from neuroimaging and neuropsychology. *Progress in Neurobiology* **72**, 341–372 (2004).
  116. Stalnaker, T. a, Cooch, N. K. & Schoenbaum, G. What the orbitofrontal cortex does not do. *Nat. Neurosci.* **18**, 620–627 (2015).
  117. Iversen, S. D. & Mishkin, M. Perseverative interference in monkeys following selective lesions of the inferior prefrontal convexity. *Exp. Brain Res.* **11**, 376–386 (1970).
  118. Hornak, J. *y cols.* Reward-related Reversal Learning after Surgical Excisions in Orbito-frontal or Dorsolateral Prefrontal Cortex in Humans. *J. Cogn. Neurosci.* **16**, 463–478 (2004).
  119. Schoenbaum, G., Nugent, S. L., Saddoris, M. P. & Setlow, B. Orbitofrontal lesions in rats impair reversal but not acquisition of go, no-go odor discriminations. *Neuroreport* **13**, 885–890 (2002).
  120. Wessel, J. R. Prepotent motor activity and inhibitory control demands in different variants of the go/no-go paradigm. *Psychophysiology* **55**, e12871 (2017).

121. Szatkowska, I., Szymańska, O., Bojarski, P. & Grabowska, A. Cognitive inhibition in patients with medial orbitofrontal damage. *Exp. Brain Res.* **181**, 109–115 (2007).
122. Vendrell, P. *et al.* The role of prefrontal regions in the Stroop task. *Neuropsychologia* **33**, 341–52 (1995).
123. Stuss, D. T., Floden, D., Alexander, M. P., Levine, B. & Katz, D. Stroop performance in focal lesion patients: dissociation of processes and frontal lobe lesion location. *Neuropsychologia* **39**, 771–86 (2001).
124. Hornak, J. *y cols.* Changes in emotion after circumscribed surgical lesions of the orbitofrontal and cingulate cortices. *Brain* **126**, 1691–1712 (2003).
125. Hornak, J., Rolls, E. T. & Wade, D. Face and voice expression identification in patients with emotional and behavioural changes following ventral frontal lobe damage. *Neuropsychologia* **34**, 247–61 (1996).
126. Lázaro, J. C. F., Solís, F. O. & Gutiérrez, A. L. Batería de funciones frontales y ejecutivas: presentación. *Rev. Neuropsicol. Neuropsiquiatría y Neurociencias* **8**, 141–158 (2008).
127. Nauczyciel, C. *y cols.* Repetitive transcranial magnetic stimulation over the orbitofrontal cortex for obsessive-compulsive disorder: a double-blind, crossover study. *Transl. Psychiatry* **4**, e436 (2014).
128. Ruffini, C. *y cols.* Augmentation effect of repetitive transcranial magnetic stimulation over the orbitofrontal cortex in drug-resistant obsessive-compulsive disorder patients: a controlled investigation. *Prim. Care Companion J. Clin. Psychiatry* **11**, 226–30 (2009).
129. Schutter, D. J. & van Honk, J. Increased positive emotional memory after repetitive transcranial magnetic stimulation over the orbitofrontal cortex. *J. Psychiatry Neurosci.* **31**, 101–104 (2006).
130. Hanlon, C. A. *y cols.* Left frontal pole theta burst stimulation decreases orbitofrontal and insula activity in cocaine users and alcohol users. *Drug Alcohol Depend.* (2017). doi:10.1016/j.drugalcdep.2017.03.039
131. Costa, A. *y cols.* The Right Frontopolar Cortex Is Involved in Visual-Spatial Prospective Memory. *PLoS One* **8**, 1–7 (2013).
132. Costa, A. *y cols.* Keeping Memory for Intentions: A cTBS Investigation of the Frontopolar Cortex. *Cereb. Cortex* **21**, 414–427 (2015).

133. Ryals, A. J., Rogers, L. M., Gross, E. Z., Polnaszek, K. L. & Voss, J. L. Associative Recognition Memory Awareness Improved by Theta-Burst Stimulation of Frontopolar Cortex. *Cereb. Cortex* **26**, 1200–1210 (2016).
134. Debarnot, U. *et cols.* Intermittent theta burst stimulation over left BA10 enhances virtual reality-based prospective memory in healthy aged subjects. *Neurobiol. Aging* **36**, 2360–2369 (2015).
135. Volman, I., Roelofs, K., Koch, S., Verhagen, L. & Toni, I. Anterior prefrontal cortex inhibition impairs control over social emotional actions. *Curr. Biol.* **21**, 1766–1770 (2011).
136. Verbruggen, F., Aron, A. R., Stevens, M. A. & Chambers, C. D. Theta burst stimulation dissociates attention and action updating in human inferior frontal cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **107**, 13966–13971 (2010).
137. Henkin, R. I., Potolicchio, S. J. & Levy, L. M. Improvement in smell and taste dysfunction after repetitive transcranial magnetic stimulation. *Am. J. Otolaryngol. - Head Neck Med. Surg.* **32**, 38–46 (2011).
138. Livermore, A. & Laing, D. G. The influence of chemical complexity on the perception of multicomponent odor mixtures. *Percept. Psychophys.* **60**, 650–661 (1998).
139. Stevenson, R. J. & Mahmut, M. K. Detecting olfactory rivalry. *Conscious. Cogn.* **22**, 504–516 (2013).
140. Stevenson, R. J. Phenomenal and access consciousness in olfaction. *Consciousness and Cognition* **18**, 1004–1017 (2009).
141. Degel, J., Piper, D. & Köster, E. P. Implicit learning and implicit memory for odors: the influence of odor identification and retention time. *Chem. Senses* **26**, 267–80 (2001).
142. Rozin, P. ‘Taste-smell confusions’ and the duality of the olfactory sense. *Percept. Psychophys.* **31**, 397–401 (1982).
143. Stevenson, R. J. & Attuquayefio, T. Human olfactory consciousness and cognition: its unusual features may not result from unusual functions but from limited neocortical processing resources. *Front. Psychol.* **4**, 819 (2013).
144. Gottfried, J. A. & Zelano, C. The value of identity: Olfactory notes on orbitofrontal cortex function. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1239**, 138–148 (2011).
145. Gottfried, J. A. What can an orbitofrontal cortex-endowed animal do with smells? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1121**, 102–120 (2007).



146. Allen, W. F. Effect of ablating the frontal lobes, hippocampi, and occipito-parieto-temporal (excepting pyriform areas) lobes on positive and negative olfactory conditioned reflexes. *Am. J. Physiol.* **128**, 754–771 (1940).
147. Varney, N. R., Pinkston, J. B. & Wu, J. C. Quantitative PET findings in patients with posttraumatic anosmia. *J. Head Trauma Rehabil.* **16**, 253–9 (2001).
148. Jones-Gotman, M. & Zatorre, R. J. Olfactory identification deficits in patients with focal cerebral excision. *Neuropsychologia* **26**, 387–400 (1988).
149. Zatorre, R. J. & Jones-Gotman, M. Human olfactory discrimination after unilateral frontal or temporal lobectomy. *Brain* **114** ( Pt 1, 71–84 (1991).
150. Caminiti, F., Ciurleo, R., Bramanti, P. & Marino, S. Persistent anosmia in a traumatic brain injury patient: Role of orbitofrontal cortex. *Brain Inj.* **27**, 1715–1718 (2013).
151. Zatorre, R. J., Jones-Gotman, M., Evans, a C. & Meyer, E. Functional localization and lateralization of human olfactory cortex. *Nature* **360**, 339–340 (1992).
152. Seubert, J., Freiherr, J., Djordjevic, J. & Lundstrom, J. N. Statistical localization of human olfactory cortex. *Neuroimage* **66**, 333–342 (2013).
153. Poellinger, a *et al.* Activation and habituation in olfaction--an fMRI study. *Neuroimage* **13**, 547–560 (2001).
154. Edelman, G. M., Gally, J. A. & Baars, B. J. Biology of consciousness. *Front. Psychol.* **2**, 4 (2011).
155. Kumar, G., Juhász, C., Sood, S. & Asano, E. Olfactory hallucinations elicited by electrical stimulation via subdural electrodes: effects of direct stimulation of olfactory bulb and tract. TL - 24. *Epilepsy Behav.* **24** VN-r, 264–268 (2012).
156. Costa, A. *y cols.* Keeping memory for intentions: A cTBS investigation of the frontopolar cortex. *Cereb. Cortex* **21**, 2696–2703 (2011).
157. Drummond, N. M., Cressman, E. K. & Carlsen, A. N. Offline continuous theta burst stimulation over right inferior frontal gyrus and pre-supplementary motor area impairs inhibition during a go/no-go task. *Neuropsychologia* **99**, 360–367 (2017).
158. Bensafi, M. *y cols.* Influence of affective and cognitive judgments on autonomic parameters during inhalation of pleasant and unpleasant odors in humans. *Neurosci. Lett.* **319**, 162–6 (2002).
159. Sorokowska, A., Sorokowski, P. & Frackowiak, T. Determinants of human olfactory

- performance: A cross-cultural study. *Sci. Total Environ.* **506–507**, 196–200 (2015).
160. Ketterer, C. *y cols.* Acute, short-term hyperinsulinemia increases olfactory threshold in healthy subjects. *Int. J. Obes.* **35**, 1135–1138 (2011).
  161. Marioni, G. *y cols.* Nasal functional modifications after physical exercise: olfactory threshold and peak nasal inspiratory flow. *Rhinol. J.* **48**, 277–80 (2010).
  162. Clepce, M. *y cols.* The psychophysical assessment of odor valence: does an anchor stimulus influence the hedonic evaluation of odors? *Chem. Senses* **39**, 17–25 (2014).
  163. Dehaene, S. & Changeux, J.-P. Experimental and Theoretical Approaches to Conscious Processing. *Neuron* **70**, 200–227 (2011).
  164. Peirce, J. W. PsychoPy—Psychophysics software in Python. *J. Neurosci. Methods* **162**, 8–13 (2007).
  165. Herwig, U., Satrapi, P. & Schönfeldt-Lecuona, C. Using the international 10-20 EEG system for positioning of transcranial magnetic stimulation. *Brain Topogr.* **16**, 95–9 (2003).
  166. Newcombe, R. G. Simultaneous comparison of sensitivity and specificity of two tests in the paired design: a straightforward graphical approach. *Stat. Med.* **20**, 907–915 (2001).
  167. Newcombe, R. G. *Confidence intervals for proportions and related measures of effect size.* (CRC Press, Taylor & Francis Group, 2013).
  168. Parvizi, J. *y cols.* Electrical stimulation of human fusiform face-selective regions distorts face perception. *J. Neurosci.* **32**, 14915–20 (2012).
  169. Nigri, A. *y cols.* Central olfactory processing in patients with disorders of consciousness. *Eur. J. Neurol.* **23**, 605–612 (2016).
  170. Edelman, G. M. & Gally, J. A. Reentry: a key mechanism for integration of brain function. *Front. Integr. Neurosci.* **7**, 63 (2013).
  171. Rolls, E. T. & Baylis, L. L. Gustatory, olfactory, and visual convergence within the primate orbitofrontal cortex. *J. Neurosci.* **14**, 5437–5452 (1994).
  172. Mori, K., Manabe, H., Narikiyo, K. & Onisawa, N. Olfactory consciousness and gamma oscillation couplings across the olfactory bulb, olfactory cortex, and orbitofrontal cortex. *Front. Psychol.*, 743 (2013).
  173. Rorden, C. & Karnath, H.-O. Using human brain lesions to infer function: a relic from a past era in the fMRI age? *Nat Rev Neurosci* **5**, 812–819 (2004).

174. Carskadon, M. A. & Herz, R. S. Minimal olfactory perception during sleep: why odor alarms will not work for humans. *Sleep* **27**, 402–5 (2004).
175. Gottfried, J. A., O’Doherty, J. & Dolan, R. J. Appetitive and aversive olfactory learning in humans studied using event-related functional magnetic resonance imaging. *J. Neurosci.* **22**, 10829–37 (2002).
176. Doty, R. L. An examination of relationships between the pleasantness, intensity, and concentration of 10 odorous stimuli. *Percept. Psychophys.* **17**, 492–496 (1975).
177. Bowman, N. E., Kording, K. P. & Gottfried, J. A. Temporal Integration of Olfactory Perceptual Evidence in Human Orbitofrontal Cortex. *Neuron* **75**, 916–927 (2012).
178. Navarrete-Palacios, E., Hudson, R., Reyes-Guerrero, G. & Guevara-Guzmán, R. Lower olfactory threshold during the ovulatory phase of the menstrual cycle. *Biol. Psychol.* **63**, 269–79 (2003).
179. Derntl, B., Schöpf, V., Kollndorfer, K. & Lanzenberger, R. Menstrual cycle phase and duration of oral contraception intake affect olfactory perception. *Chem. Senses* **38**, 67–75 (2013).
180. Saltagi, M. Z., Rabbani, C. C., Ting, J. Y. & Higgins, T. S. Management of long-lasting phantosmia: a systematic review. *Int. Forum Allergy Rhinol.* (2018). doi:10.1002/alr.22108
181. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* vol. 310,20 (2013)

# ANEXOS

## GO/NO-GO TASK

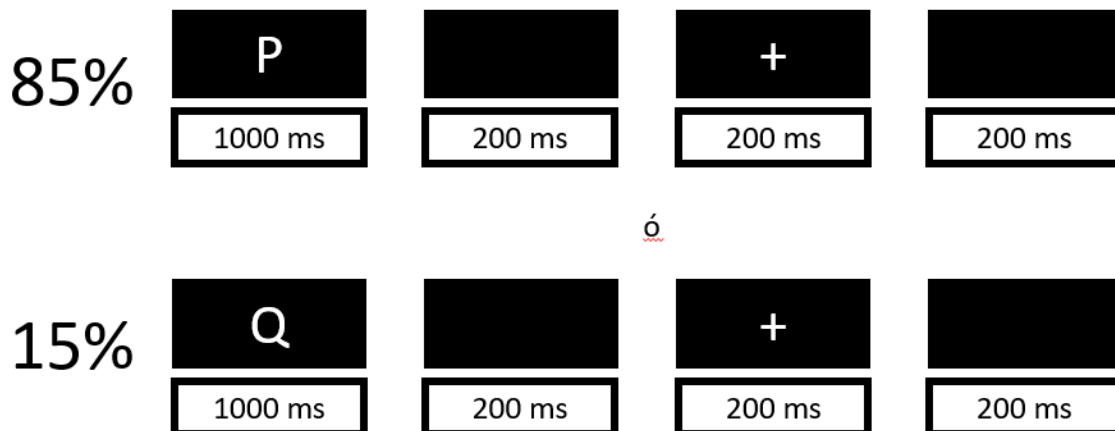
La Go/no-Go task se aplica por medio de una computadora en el programa Psychopy. El 85 % de los estímulos son Go (letra P), mientras que el otro 15% son estímulos no Go (letra Q). Estos son mostrados por únicamente 1000 ms y es en esta ventana de tiempo donde el sujeto tiene que emitir la respuesta a las instrucciones. En la ilustración de este anexo se muestra cuantos trials son mostrados en total y el orden en el que las instrucciones se presentan<sup>120,126</sup>.

### INSTRUCCIONES 1

“En esta prueba observarás en la pantalla varias letras P y R.  
Siempre que veas una P responde presionando la BARRA ESPACIADORA del teclado.  
NUNCA RESPONDAS cuando lo que aparezca sea una R.  
La mayoría de las letras que observarás son letras P  
Trata de responder tan rápido y correctamente como puedas; se te tomará el tiempo”.

### INSTRUCCIONES 2

“En esta segunda parte del estudio, tenemos que hacer lo contrario.  
Ahora, debes responder cada vez que aparezca la letra R, pero no responder cuando veas una letra P.  
La mayoría de las letras que observarás serán P”.



**Figura Anexo 1.** Instrucciones y conformación de la Go/no-Go task.

# OLFATÓMETRO

El olfatómetro diseñado es un equipo de bajo costo, modular, controlado con computadora, de fácil utilización y que ofrece gran flexibilidad experimental.

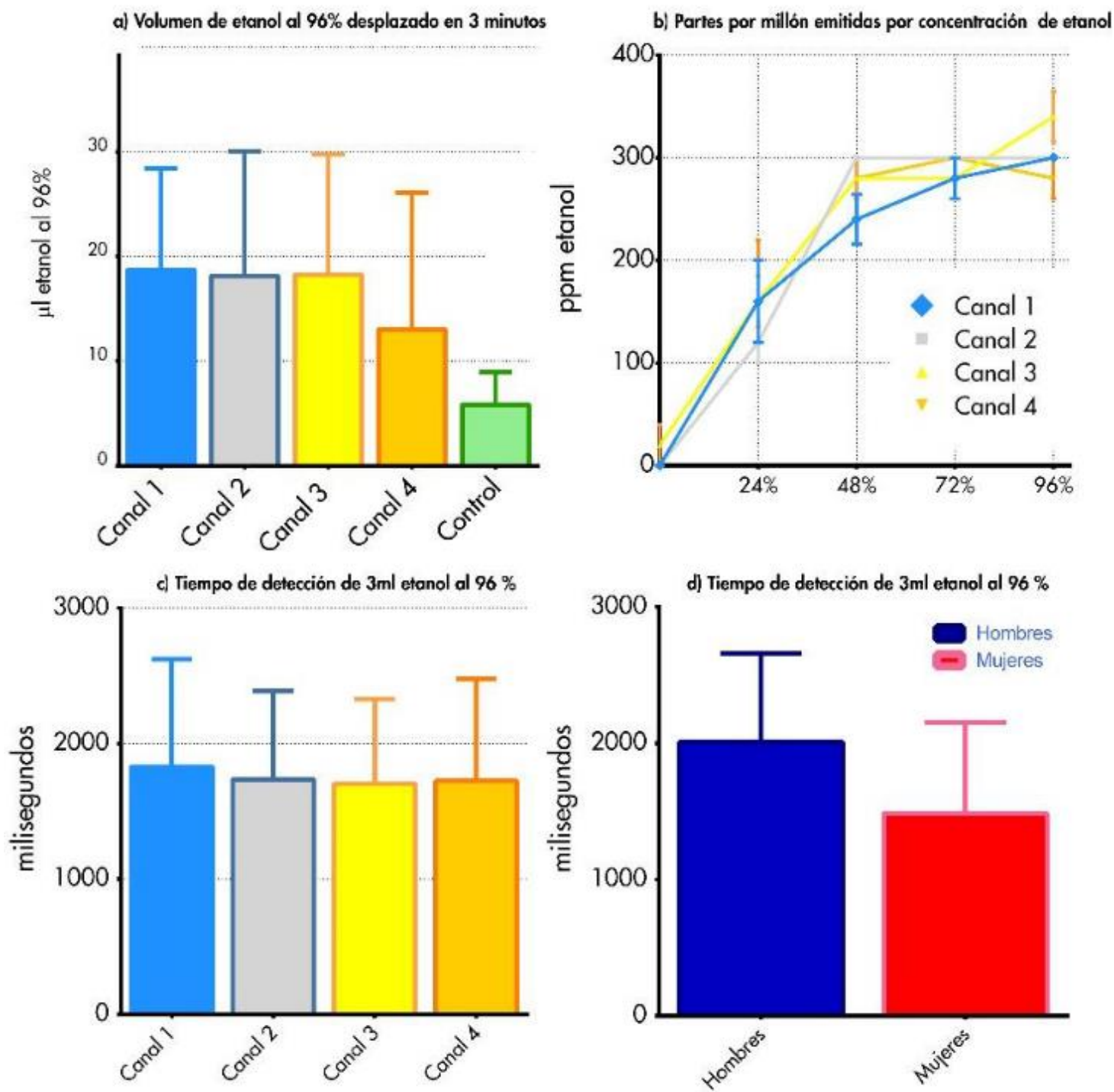
El principio básico que utiliza el olfatómetro diseñado es utilizar una pequeña compresora de aire y hacer pasar el aire por odorantes y posteriormente hacia la nariz del sujeto.

Consta una de compresora, un filtro y 4 canales para la aplicación de 4 odorantes distintos. Es controlado por un microcontrolador tipo Arduino el cual enciende el compresor y abre las válvulas solenoides con una resolución de milisegundos. El olfatómetro además incluye un botón el cual el sujeto puede apretar para indicar que ha detectado un olor y de esta forma obtener un tiempo de detección del odorante.

A continuación del anexo se muestran el diagrama neumático y el circuito eléctrico que controla el olfatómetro.

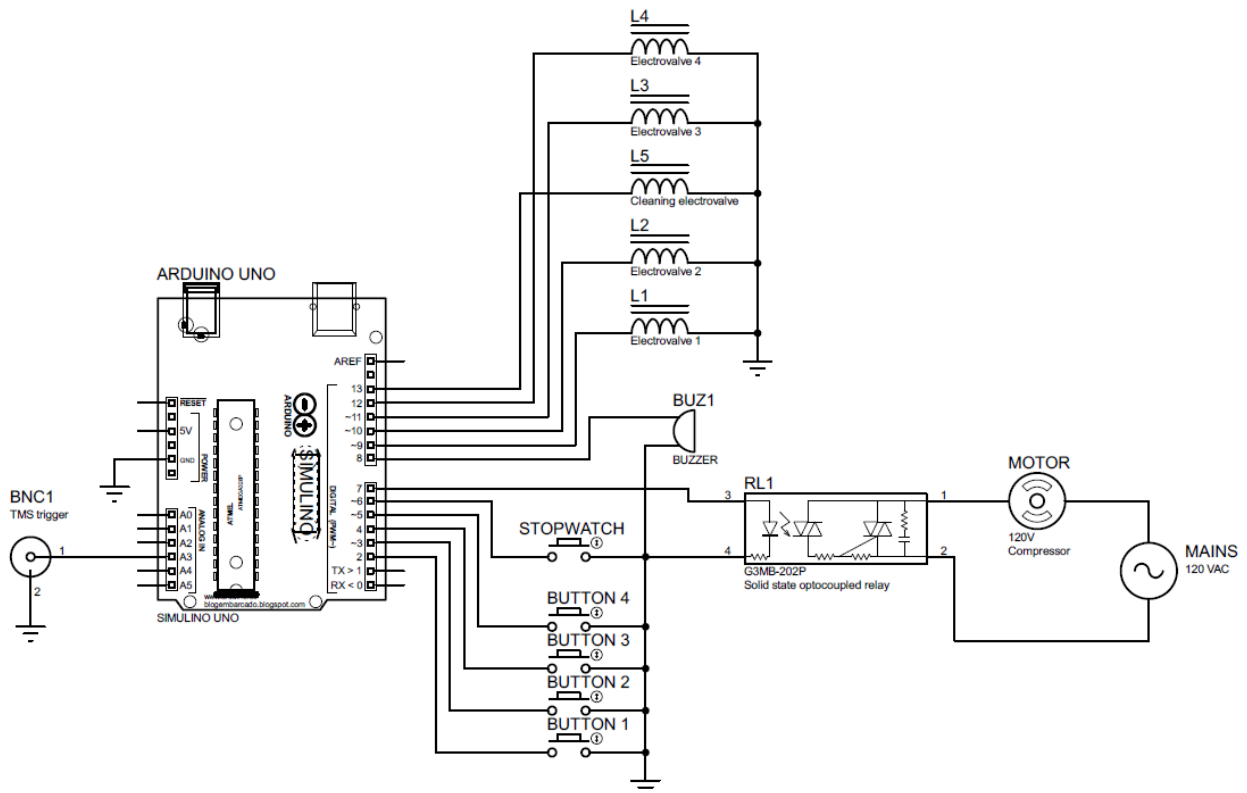
Se realizó la estandarización del olfatómetro la cual se observa en la **Figura 2** del anexo. No se encontraron diferencias entre el volumen desplazado por cada canal (**Figura 2a**). Al aumentar la concentración del etanol observamos un aumento en las partes por millón emitidas por el olfatómetro y de igual forma no se encuentran diferencias significativas entre canales (**Figura 2b**). Se reclutaron 10 sujetos de entre 18 y 30 años para realizar la estandarización del tiempo de detección. No se observaron diferencias entre los canales para el tiempo en que tardan los sujetos en detectar etanol al 96% (**Figura 2c**). Se encontró un tiempo de detección menor para mujeres comparado con los hombres (**Figura 2d**).

En la **Figura 3 y 4** del anexo se muestra un diagrama eléctrico y neumático del olfatómetro utilizado. El olfatómetro cuenta con 4 canales y es controlado por un microcontrolador tipo Arduino. El microcontrolador tiene cargado un programa escrito en el lenguaje de programación Arduino el cual activa por el tiempo determinado en los experimentos una compresora y la válvula para hacer pasar el odorante hacia la nariz del sujeto.

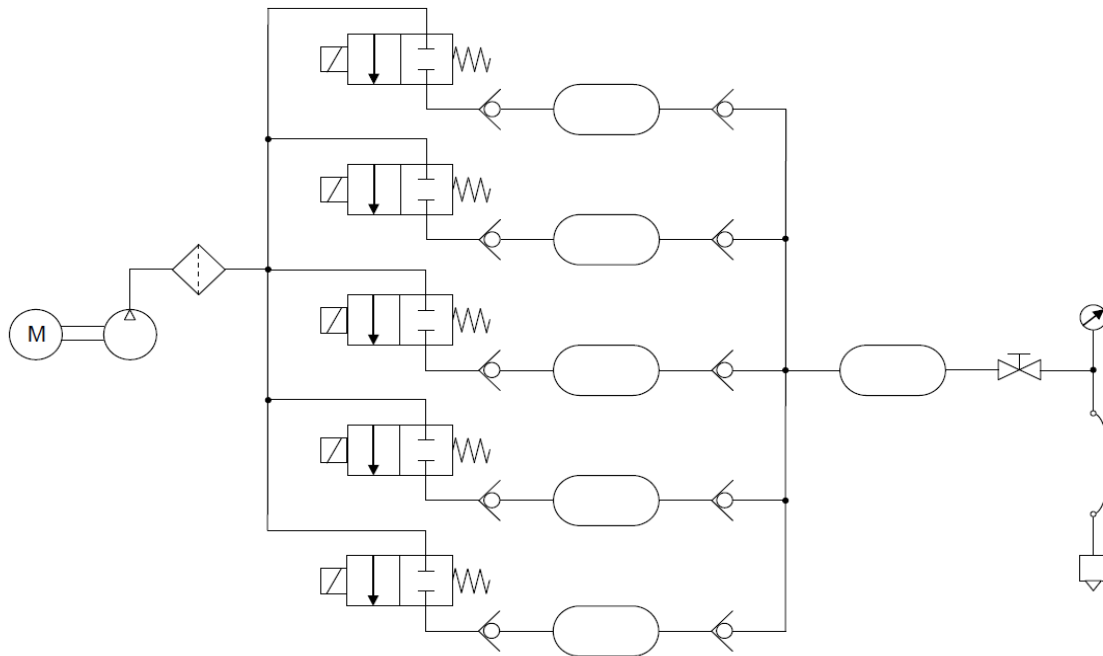


**Figura Anexo 2.** Estandarización del olfatómetro utilizado en la presente tesis. A) No se encontraron diferencias entre el volumen desplazado por cada canal del olfatómetro. B) Al aumentar la concentración del etanol se observó un aumento en las partes por millón emitidas por el olfatómetro. C) Para estandarizar que la dispersión del odorante fuera similar en todos los canales, se midió el tiempo

de detección olfatoria. No se observaron diferencias entre los canales para el tiempo en que tardan los sujetos en detectar etanol al 96%. D) Se encontró un tiempo de detección menor para mujeres comparado con los hombres.



**Figura 3 del anexo.** Esquema eléctrico para el control del olfatómetro. El control del olfatómetro es realizado por un microcontrolador Arduino; el microcontrolador utiliza pines de entrada y de salida para manejar la entrada de señales de botones y emitir señales para encender las válvulas, respectivamente. Además, el microcontrolador maneja un relevador de 120 V para controlar el apagado y prendido de una compresora de aire.



**Figura 4 del anexo.** Esquema neumático del olfatómetro. El aire proviene de una compresora de 120 V, posteriormente es filtrado por un filtro de carbón activado para eliminar cualquier odorante en el aire. A continuación, el aire es dirigido por medio de válvulas solenoides hacia cualquiera de los canales del olfatómetro; cada canal contiene un odorante diferente. Antes y después del odorante existen válvulas de no retorno, para evitar la contaminación del sistema con odorante. Al final, el aire se dirige hacia la nariz del sujeto por medio de unas puntas nasales.



## CÁLCULO DEL UMBRAL DE DETECCIÓN OLFATORIO.

Para calcular el umbral de detección olfatorio se usarán diversas concentraciones de cada uno de los 3 estímulos odorantes que se utilizaron en el presente estudio. Para realizar las soluciones a diversas concentraciones se utilizará como solvente el propilen glicol el cual es inodoro. El paradigma para el cálculo del umbral de detección olfatorio más utilizado es el de escalera y respuesta forzada y por tanto fue el utilizado.

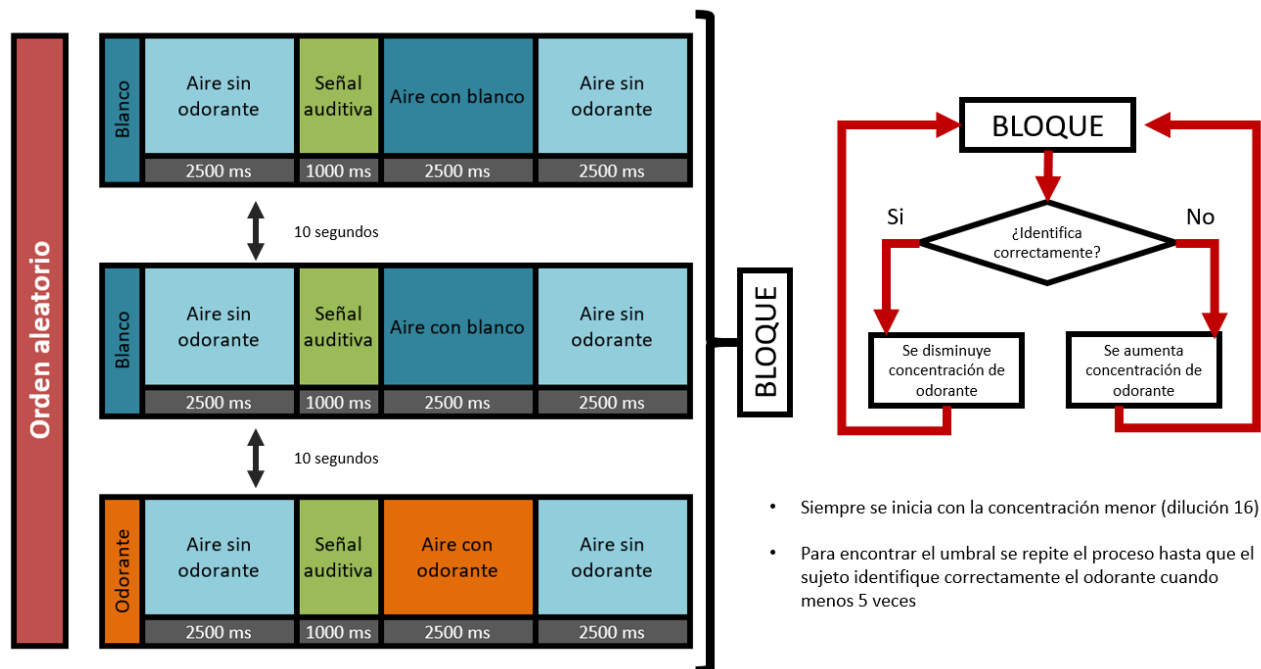
Se realizó una alícuota de todos los odorantes y se usarán en una concentración máxima de 8 % diluidos en propilen glicol. A partir de esta alícuota original, se generaron las diluciones observadas en la siguiente tabla:

**Tabla 1 del anexo.** Número de dilución, concentración y porcentaje utilizado en cada uno de los recipientes de odorante.

Dilución	Concentración	Porcentaje
1	1:1	8%
2	1:2	4%
3	1:4	2%
4	1:8	1%
5	1:16	0.5%
6	1:32	0.25%
7	1:64	0.125%
8	1:128	0.063%
9	1:256	0.031%
10	1:512	0.016%
11	1:1024	0.008%
12	1:2048	0.004%
13	1:4096	0.002%
14	1:8192	0.001%
15	1: 16384	0.0005%

16	1: 32768	0.00025%
----	----------	----------

Al principio de la prueba se le presentó al paciente un bloque de tripleta de recipientes (uno con una concentración dada en tabla anterior y 2 con únicamente propilen glicol). Se inició con la concentración más baja y se fue aumentando o disminuyendo la concentración según el sujeto detecte o no correctamente la diferencia entre las tripletas. En la imagen de este anexo se encuentra una descripción más detallada de cómo se presenta el bloque de tripletas al sujeto.



- Siempre se inicia con la concentración menor (dilución 16)
- Para encontrar el umbral se repite el proceso hasta que el sujeto identifique correctamente el odorante cuando menos 5 veces

Una vez que el sujeto detectó una diferencia entre las tripletas 1 vez en una concentración dada, se dio nuevamente elegir en entre la tripleta con la misma concentración. Si el sujeto identificó correctamente dos veces seguidas la tripleta se marcaron como el punto de partida; en este punto se mostró una nueva concentración, en este caso un nivel menor. Si el sujeto identificó correctamente la concentración menor proseguiremos hasta que el sujeto no identifique correctamente la tripleta a una concentración menor, la cual se convirtió en un nuevo punto de reversa. El procedimiento continuó hasta que se encuentran 5 puntos de reversa. El umbral se consideró como la solución más concentrada que pudo el sujeto identificar correctamente.

Una vez obtenido el umbral de detección del primer odorante, se repitió el proceso con los otros 2 odorantes restantes.

## INSTRUCCIONES PARA ESTIMULACIÓN

El primer paso es obtener el umbral motor en reposo:

- El siguiente procedimiento se llevó en el área de movimiento de la unidad de trastornos del movimiento y sueño del Hospital General “Manuel Gea González”.
- Se sentó al sujeto en un reposet cómodo con respaldo para la cabeza y pies.
- Previa limpieza con torundas impregnadas con alcohol etílico al 70% del área del músculo primer interóseo dorsal, región anterior del antebrazo y músculo cubital posterior, se colocaron electrodos de superficie marca 3M en los sitios antes mencionados (para el electrodo de registro de tierra y de referencia respectivamente), los cuales estaban conectados al electromiograma del estimulador magnético transcraneal Magstim Rapid 2.
- Se ubicó la potencial zona a estimular: corteza motora primaria (M1) mediante la ubicación a 40 mm laterales izquierda y derecha del vértex (para hemisferio izquierdo y derecho).
- Se colocaron ambas extremidades en supinación sobre los muslos del sujeto.
- Se comprobó la ausencia de ruido electromiográfico con la bobina en forma de 8 del estimulador magnético transcraneal.
- Se colocó la bobina en forma de 8 del estimulador de magnético transcraneal Magstim Rapid 2 en una orientación a 45° anteroposterior sobre el área identificada como M1 del hemisferio derecho
- Iniciando a una intensidad de 50% de la capacidad del estimulador magnético transcraneal, se proporcionaron estímulos separados en tiempo por al menos 10 s con el objetivo de la identificación en el electromiograma de un potencial motor evocado. De no encontrarse se procedió a la elevación de la intensidad del estimulador de 5% en 5% hasta encontrar un potencial motor evocado.

- Una vez encontrado una intensidad suficiente para la producción de un MEP visible a este sitio se le denominó HOTSPOT.

Para calcular el umbral motor en activación:

- Se le dió al sujeto un dinamómetro el cual nos dice la fuerza con la que el sujeto aprieta el dedo índice y el pulgar. Se medirá la fuerza máxima que el sujeto produce A continuación se calculó el 20% de esta fuerza máxima y se le pidió al sujeto que apriete hasta obtener el 20% de su fuerza máxima.
- Se aplicaron pulsos sobre el HOTSPOT mientras que el sujeto presiona con el 20% total de su fuerza. A continuación, se modificó la intensidad máxima de la máquina hasta encontrar una intensidad en la que se obtiene de 6 estímulos consecutivos en el sitio de estimulación, un 50% de MEPs con una amplitud mínima de 200 mV de pico a pico mientras el músculo primer interóseo dorsal estuvo en contracción. De esta manera se establece el umbral motor en activación.
- El umbral motor en activación debe ser multiplicado por 0.8 (para obtener el 80% de este).

## **ARTÍCULO PUBLICADO EN FRONTIERS IN NEUROSCIENCE**

Villafuerte G, Miguel-Puga A and Arias-Carrión O (2019) Continuous Theta Burst Stimulation Over the Right Orbitofrontal Cortex Impairs Conscious Olfactory Perception. *Front. Neurosci.* 13:555. doi: 10.3389/fnins.2019.00555



# Continuous Theta Burst Stimulation Over the Right Orbitofrontal Cortex Impairs Conscious Olfactory Perception

Gabriel Villafuerte<sup>1,2</sup>, Adán Miguel-Puga<sup>1,2</sup> and Oscar Arias-Carrión<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup> Unidad de Trastornos del Movimiento y Sueño (TMS), Hospital General Dr. Manuel Gea González, Mexico City, Mexico, <sup>2</sup> Plan de Estudios Combinados en Medicina (PECEM), Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico, <sup>3</sup> Centro de Innovación Médica Aplicada (CIMA), Hospital General Dr. Manuel Gea González, Mexico City, Mexico

## OPEN ACCESS

### Edited by:

Sylvain Baillet,  
McGill University, Canada

### Reviewed by:

Silmar Teixeira,  
Federal University of Piauí, Brazil  
Matteo Bologna,  
Sapienza University of Rome, Italy

### \*Correspondence:

Oscar Arias-Carrión  
arias@ciencias.unam.mx  
ariasmc2@gmail.com

### Specialty section:

This article was submitted to  
Brain Imaging Methods,  
a section of the journal  
Frontiers in Neuroscience

Received: 16 October 2018

Accepted: 14 May 2019

Published: 06 June 2019

### Citation:

Villafuerte G, Miguel-Puga A and  
Arias-Carrión O (2019) Continuous  
Theta Burst Stimulation Over  
the Right Orbitofrontal Cortex Impairs  
Conscious Olfactory Perception.  
*Front. Neurosci.* 13:555.  
doi: 10.3389/fnins.2019.00555

The right orbitofrontal cortex (rOFC) has been proposed as the region where conscious olfactory perception arises; however, evidence supporting this hypothesis has all been collected from neuroimaging and lesion studies in which only correlation and not a temporal pattern can be established. Continuous theta burst stimulation (cTBS) causes a reversible disruption of cortical activity and has been used successfully to disrupt orbitofrontal activity. To overcome intrinsic limitations of current experimental research, a crossover, double-blind, prospective and longitudinal study was carried out in which cTBS was applied over the rOFC to evaluate its effect on odorant stimuli detection. All subjects received real and sham cTBS. Experimental procedures were done in two different sessions with a separation of at least one week between them to avoid carryover and learning effects. A total of 15 subjects completed the experiment, and their data were included in the final analysis (10 women, 5 men, mean age  $22.40 \pm 3.41$ ). Every session consisted of two different measures of the conscious olfactory perception task: A baseline measure and one 5 min after cTBS/sham. Compared to baseline, marks in the olfactory task during the sham cTBS session increased ( $p = 0.010$ ), while marks during the real cTBS session decreased ( $p = 0.017$ ). Our results support the hypothesis that rOFC is an important node of a complex network required for conscious olfactory perception to arise. However, the exact mechanism that explains our results is unclear and could be explained by the disruption of other cognitive functions related to the rOFC.

**Keywords:** consciousness, continuous theta burst stimulation, olfaction, orbitofrontal cortex, perception, prefrontal cortex

## INTRODUCTION

Crick and Koch (1990) first proposed the neural correlates of consciousness as a means to explain conscious experiences. Neural theories of consciousness are mostly inferred from findings in the visual and auditory perceptual modalities and are not entirely applicable to other sensory modalities like olfaction (Stevenson and Attquayefio, 2013). It is theorized that the endpoint integration

cortex of conscious olfactory perception is the three-layered piriform cortex (Merrick et al., 2014), which would set the neural correlate of olfactory consciousness in the paleocortex. Nevertheless, an alternative hypothesis focuses on the right orbitofrontal cortex (rOFC), a neocortical structure.

The correlation between rOFC activation and conscious olfactory perception was first described by Zatorre et al. (1992); thereafter, evidence from multiple neuroimaging studies (Kringelbach and Rolls, 2004; Gottfried and Zald, 2005; Seubert et al., 2013) and lesion studies have supported this relationship (Zatorre and Jones-Gotman, 1991; Li et al., 2010). However, a major drawback of using this type of studies to establish causality is the bias inherent to the different components of neuroimaging techniques and temporal resolution. Also, contradictory evidence exists regarding rOFC and conscious olfactory perception: direct cortical electrical stimulation via subdural electrodes over rOFC failed to produce positive olfactory perception in children with epilepsy (Kumar et al., 2012); and not all subjects with rOFC damage have olfactory impairment (Jones-Gotman and Zatorre, 1988).

Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) is a safe, non-invasive method to study cortical function. It is based on the Faraday's Law of Induction that describes how a changing magnetic field creates an electrical current and conversely, how an electrical current running through a coil generates a magnetic field. Which, in the case of rTMS, goes through the skull and modifies the activity of the underlying neurons (Kobayashi and Pascual-Leone, 2003). By applying the magnetic pulses repetitively, it is possible to, transiently, disrupt cortical activity and therefore create an experimental approach in which a temporal pattern can be established.

Several studies have used rTMS to successfully impair the activity of the rOFC (Nauzyciel et al., 2014). Due to shorter stimulation time, continuous theta burst stimulation (cTBS) was shown to be the most efficient modality of rTMS for this purpose (Costa et al., 2011; Volman et al., 2011; Cerasa et al., 2015; Ryals et al., 2016; Hanlon et al., 2017). To our knowledge, none of these attempts to disrupt rOFC evaluated its effect on olfactory perception.

So that the sensory modality of olfaction can be integrated with the current paradigm of consciousness research, experimental evidence of the relationship between rOFC and conscious olfactory perception is needed. As cTBS causes a reversible disruption of cortical activity (Huang et al., 2005; Hanlon et al., 2017), we hypothesized that cTBS over rOFC would impair the ability of a subject to consciously detect odorant stimuli.

## MATERIALS AND METHODS

### Participants

Subjects between 18 and 30 years old were recruited for the present study from January 2018 until October 2018. Subjects did not have a history of brain disorders, sensory perception dysfunction nor were consuming any drug with central nervous system activity. All subjects were screened

for olfactory dysfunction prior to the study using the Quick Smell Identification Test™ (Sensonics International, Haddon Heights, NJ). A total of 21 subjects were recruited and screened. Seventeen right-handed subjects satisfied the inclusion/exclusion criteria; however, two of these subjects did not finish the experiment. The data of the 15 subjects that completed the experiment are included in the final analysis (10 women, 5 men, mean age  $22.40 \pm 3.41$ ). Subjects provided written informed consent to participate in the study. The study protocol was reviewed and accepted by the research and ethics committee of Hospital General "Dr. Manuel Gea González"; protocol number 49-54-2018 and was conducted per the Declaration of Helsinki.

### Experimental Design

All subjects received both real and sham cTBS. Experimental procedures were done in two different sessions with at least one week of separation to avoid carryover and learning effects. The order of stimulation was randomized to avoid possible bias. Both subjects and the researcher applying the olfactory task were blinded to the type of each session. The cTBS protocol was applied by a researcher that had no participation in the conscious olfactory perception task.

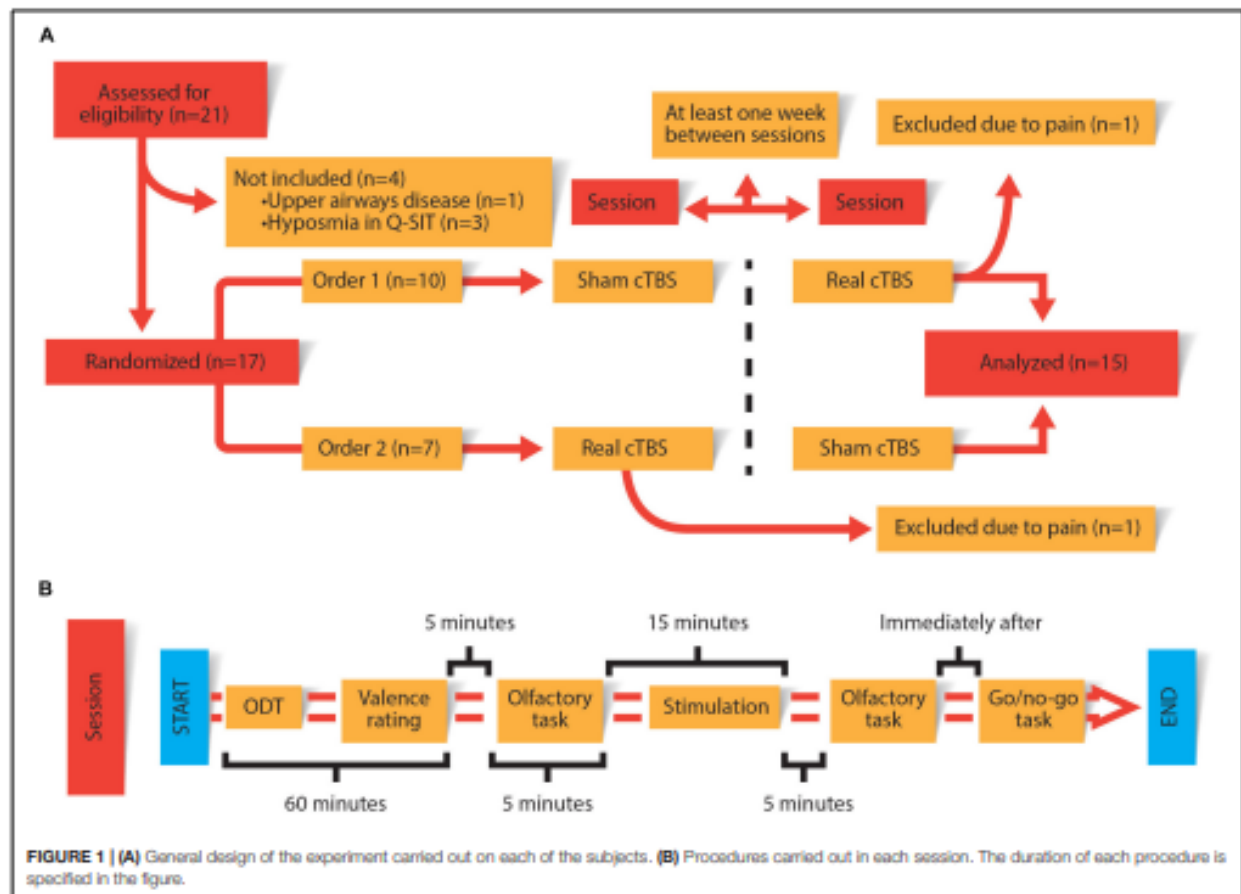
Every session consisted of collecting two different measures of the conscious olfactory perception task: at baseline and another 5 min after cTBS/sham. An olfactory detection threshold (ODT) task was realized for every odorant stimuli used in the conscious olfactory perception task. After establishing ODT, a pleasantness rating was asked for every odorant stimuli. Finally, as a positive control of the impairment of the rOFC a Go/no-go task was administered to the subject 10 min after cTBS/sham (Drummond et al., 2017). All procedures are summarized in Figure 1.

### Odorant Stimuli

To avoid possible bias in the experimental response of the subjects due to the pleasantness of the odorants (Bensafi et al., 2002), we chose odorants with three different values of pleasantness: Valeric acid (Sigma-Aldrich 240370) which has an unpleasant rotten-like odor, alpha-pinene (Sigma-Aldrich 147524) which has a neutral wood-like odor and amyl acetate (Sigma-Aldrich 109584) which has a pleasant rose-like odor. Two-fold serial dilutions were prepared for each of the three odorants ranging from 8% concentration (labeled number 1) to  $2.5 \times 10^{-4}$  % concentration. Propylene glycol (Sigma-Aldrich P4347) was used as the solvent in all dilutions.

### Olfactory Detection Threshold Task

Olfactory detection threshold is found by determining the smallest concentration in which a subject can detect an odorant. Due to the many variables that can alter this threshold from one day to another (Marioni et al., 2010; Ketterer et al., 2011; Sorokowska et al., 2015), ODT was calculated individually for each odorant at the beginning of each session. A forced choice, single staircase paradigm as described by Doty (2015) was used to establish the ODT. A custom made olfactometer, [design based on previously published papers (Lundström et al., 2010;



Lowen et al., 2016)], was used to administer the odorant stimuli to both nostrils for 5 s. The concentration obtained at the ODT was then used in the conscious olfactory perception task.

### Odorant Valence Rating

Odorant valence is defined as the pleasantness of an odorant to an individual subject. As personal preferences influence the valence evoked by the odorants, at the start of every session we tested each subject's valency of the odorants at the ODT concentration. A visual analog scale, as described by Clepce et al. (2014) was used. For each odorant, subjects were presented with a paper with a straight line of 20 cm. A mark and a zero (0) were printed at the center of the line; negative ("— — —") and positive ("+ + +") signs were printed at the left and right extremes of the line, respectively. Subjects were instructed to rate the odorants; the left extreme represented the most unpleasant odorant they could recall, and the right extreme represented the most enjoyable odorant they could recall. The zero indicated neither an enjoyable nor unpleasant experience, i.e., a neutral odor. The subject was instructed to mark the perceived odorant valence at the corresponding place along the line. Distance from the subject's mark to zero was measured and used as a continuous variable of pleasantness.

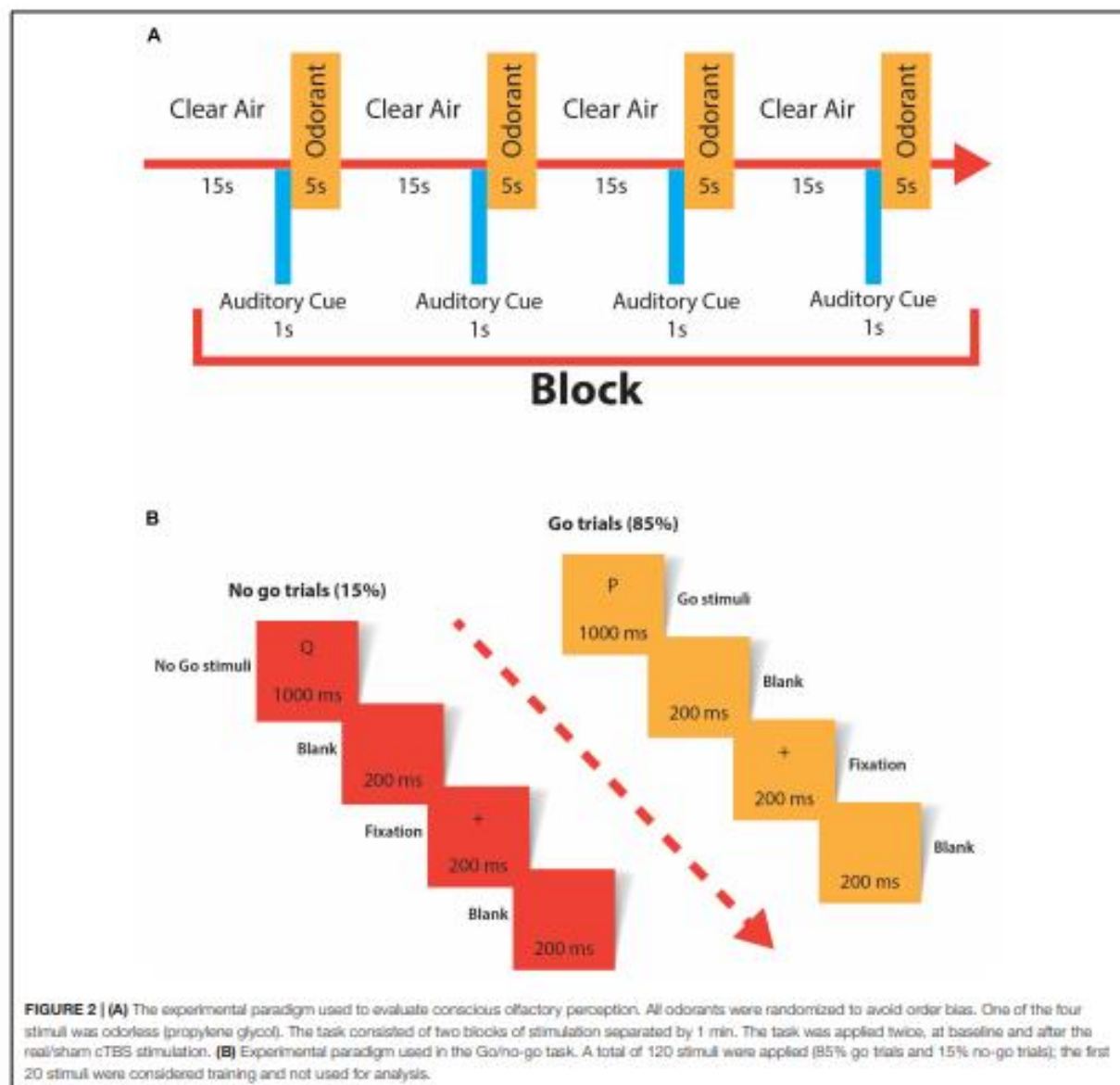
### Conscious Olfactory Perception Task

Assessing conscious perception in any sensorial modality is controversial; however, it is widely accepted that self-reported experiences are a valid way to test consciousness (Dehaene and Changeux, 2011). We designed a similar task to one published by Li et al. (2010). The previously named odorants plus an odorless stimulus (propylene glycol) were presented directly to the subject's nostrils using our custom made olfactometer. A block of stimulation consisted of the 4 stimuli administered one after another with a separation of 15 s of clean air between stimuli in a randomly sequenced order. The task consisted of two blocks of stimulation separated by 1 min. All subjects were blindfolded to prevent visual input interference. The subjects were instructed to push a button only if they detected an odorant. To focus the attention of the subject, they were instructed to sniff for odorant only after an auditory cue. Correct answers (true positives and true negatives) and mistakes (false positives and false negatives) were recorded. The conscious olfactory perception task is resumed in Figure 2A.

### Go/No-Go Task

The rOFC is widely associated with motor response inhibition (Rolls, 2004). Alteration of motor response inhibition has





been reported in humans (Drummond et al., 2017) and non-human primates (Iversen and Mishkin, 1970) after disrupting activity in the orbitofrontal cortex. A Go/no-go task (Wessel, 2017) was used to measure motor response inhibition in our subjects. We used the Psychopy software (Peirce, 2007) to design and administer the Go/no-go task. Total marks and mistakes were recorded.

Signal detection theory was the approach we used to determine changes in the hit rate and correct rejection rate between trials. Hits (true positives), false alarms (false positives), misses (false negatives) and correct rejections (true negatives) were calculated by pooling the results of all the subjects in each

of the trials (baseline sham cTBS, post-sham cTBS, baseline real cTBS and post-real cTBS). To simultaneously compare hit rates (hits/hits + misses) and correct rejection rates (correct rejections/correct rejections + false alarms) of different trials in a straightforward graphical approach, the method described by Newcombe (2001) was used. This method calculates the difference with 95% confidence intervals between the hit rate and correct rejection rate of two conditions. All the calculations of this method were performed using the Excel spreadsheets provided as downloadable content in a book by the same author (Newcombe, 2013). Parameter  $\lambda$  is the mixing parameter that represents the weighting of the hit rate and the correct rejection rate. Statistical

significance was assumed when the 95% confidence intervals did not cross zero (Newcombe, 2001). Details of the Go/no-go task are described in Figure 2B.

## Continuous Theta Burst Stimulation (cTBS)

A cTBS protocol was used to disrupt the activity of the rOFC. We used a Magstim Rapid 2 machine (Magstim Co., Whitland Wales, United Kingdom) to deliver the magnetic pulses. A figure-of-eight coil with a 70 mm of diameter was used for all experimental procedures. The cTBS protocol implemented here was first described by Huang et al. (2005); it consists of 20-s trains of 3 pulses at 50 Hz separated by 200 ms, for a total of 300 pulses. Machine output intensity was set at 80% of the individual active motor threshold (AMT). AMT was calculated at each session for the left first dorsal interosseous. We defined AMT as the minimum machine output intensity needed to produce motor evoked potentials of at least 200  $\mu$ V, while the muscle contraction was at 20% of the maximum contraction (Huang et al., 2005). The inhibition caused by cTBS lasts for at least 15 min after the stimulation (Huang et al., 2005).

To locate the rOFC we combined the 10–20 EEG coordinates for Fp2 and neuronavigation using the Visor2 software and Polaris Vicra 3d camera. The Fp2 coordinates were located in the skull of the subject as described by Herwig et al. (2003). The anatomical location was then digitalized and merged with a standardized MRI with the visor2 software. The real cTBS was applied tangentially to the stimulation site with the handle pointing upward, while the sham cTBS was applied in the same site but with the coil turned 90° away from the stimulation point. Subjects were blindfolded and asked to close their eyes during stimulation.

## Statistical Analysis

All statistical analyses were performed with an IBM SPSS statistics 20 package for Windows. Figures were created with GraphPad software for Windows. Differences between sham and real cTBS conditions were assessed with paired *T*-tests

**TABLE 1** | Results of the different variables measured in both sessions.

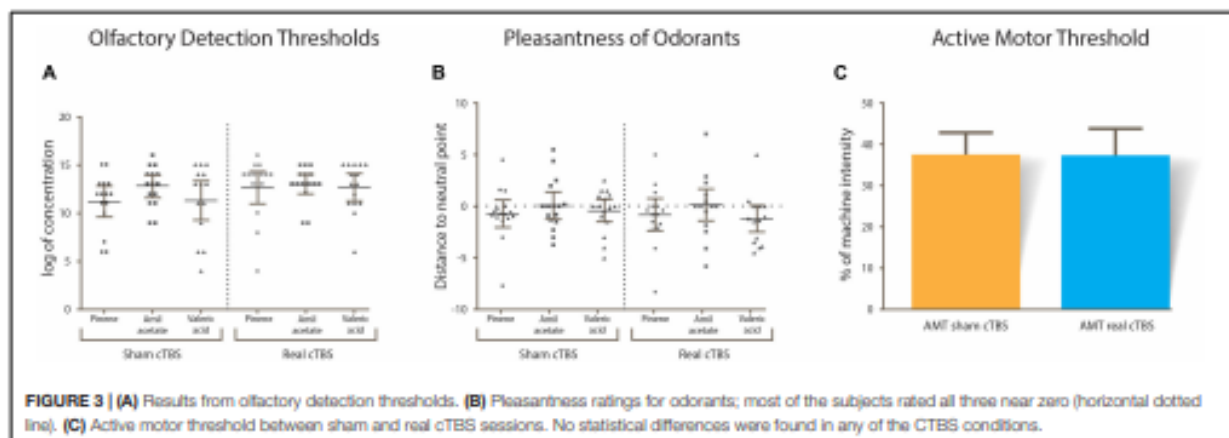
Variables	Sham cTBS	Real cTBS	<i>p</i> -value
Pinene Threshold	11.20 ± 2.86	12.60 ± 3.02	0.273
Amil acetate Threshold	12.73 ± 2.09	13.00 ± 1.85	0.644
Valeric acid Threshold	11.27 ± 3.59	12.67 ± 2.55	0.142
Pinene Valency (mm)	-0.25 ± 2.54	-1.22 ± 2.54	0.176
Amil acetate Valency (mm)	0.17 ± 2.54	0.53 ± 2.54	0.484
Valeric acid Valency (mm)	-0.56 ± 2.07	-0.98 ± 2.38	0.487
Active Motor Threshold (%)	37.53 ± 5.94	37.93 ± 6.30	0.764
Olfactory Marks baseline	4.87 ± 1.06	5.53 ± 1.13	0.106
Olfactory Marks post-stimulation	5.60 ± 0.91	4.73 ± 1.16	0.022
Mistakes Go/no-go task	1.20 ± 1.37	2.07 ± 1.91	0.007

All the displayed results are means and standard deviations. *p* values are calculated with paired *t*-test statistics.

that compared ODT, odorant valences, AMT and the Go/no-go task results. A two-way repeated measures ANOVA was carried out to establish the interaction between time (baseline vs. post-stimulation) and type of stimulation (sham vs. real) in the marks obtained in the olfactory conscious detection task. A Spearman's rank-order correlation test was used to determine if there was a relationship between mistakes in the Go/no-go task and mistakes made in the conscious olfactory task. Values of *p* < 0.05 were considered statistically significant unless otherwise specified.

## RESULTS

A summary of the results is displayed in Table 1. In general, variables that could affect the outcome of the study (odorant valence, AMT, ODT) did not differ between session type (real or sham cTBS). All variables were normally distributed and therefore paired sample *T*-tests were used. There was no statistical difference in the ODTs of each odorant within sessions (alpha-pinene  $t(14) = -1.142$ ,  $p = 0.273$ , amil acetate  $t(14) = -0.472$ ,  $p = 0.644$ , valeric acid  $t(14) = -1.558$ ,  $p = 0.142$ ; Figure 3A). Odorant pleasantness was not statistically

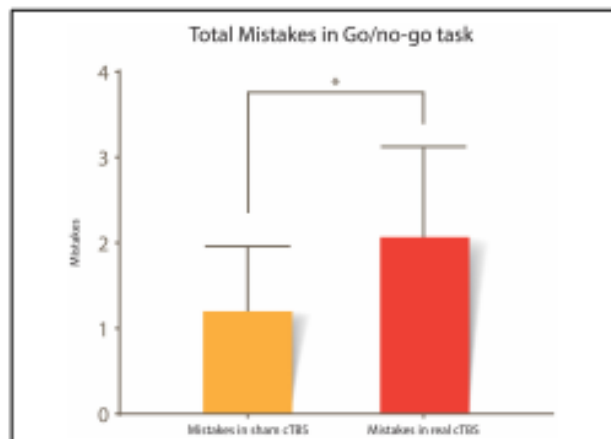


different between sessions and within odorants (alpha-pinene  $t(14) = 1.427$ ,  $p = 0.176$ , amil acetate  $t(14) = -0.718$ ,  $p = 0.484$ , valeric acid  $t(14) = -0.307$ ,  $p = 0.487$ ; **Figure 3B**). The AMT was not different between sessions  $t(14) = -0.307$ ,  $p = 0.764$ ; **Figure 3C**.

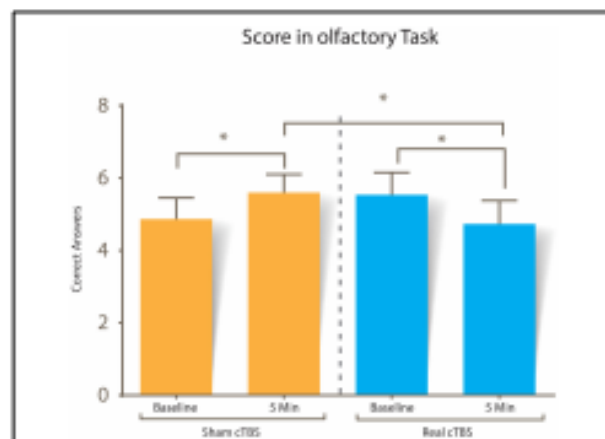
A paired sample *T*-test was used to assess whether there was a statistically significant difference between the mistakes committed in the Go/no-go task in the real cTBS condition compared to the sham cTBS condition. There were no outliers in the data, as no data point was greater than 1.5 box lengths from the edge of the boxplots. The difference in mistakes for the real cTBS and the sham cTBS fulfilled the normality assumption, as assessed by Shapiro-Wilk's test ( $p = 0.246$ ) and normal Q-Q plots. Participants had more mistakes in the real cTBS condition ( $2.06 \pm 1.91$ ) compared with the sham cTBS condition ( $1.20 \pm 1.37$ ); this was interpreted as a statistically significant increase of 0.87 (95% CI, 0.28 to 1.45) mistakes in the real cTBS condition,  $t(14) = 3.166$ ,  $p = 0.007$   $d = 0.82$ ; **Figure 4**.

As the Go/no-go task was intended to reflect the function of the rOFC, we hypothesized that the number of mistakes in the Go/no-go task after the real cTBS test would correlate with the number of mistakes in the olfactory task after the real cTBS. A Spearman's rank-order correlation was used to prove this hypothesis. No correlation was found between the variables  $r_s(13) = 0.142$ ,  $p = 0.613$ .

Scores of the olfactory task in each of the different conditions are displayed in **Figure 5**. A two-way repeated measures ANOVA was performed to determine the effect of cTBS between baseline and post-stimulation in the rOFC. Using standardized residuals, no outliers were found in our data (values  $\pm 3$  were considered outliers). Scores in the olfactory consciousness task were distributed normally ( $p > 0.05$ ) except at the pre-cTBS trial ( $p = 0.018$ ), as assessed by Shapiro-Wilk's test of normality on the standardized residuals; however, Q-Q plots and box plots showed symmetry in the non-normal data, so no further adjustment was made to the data.



**FIGURE 4** | Total mistakes committed in the Go/no-go task. A statistical difference between sham vs. real cTBS conditions is noted  $t(14) = 3.166$ ,  $p = 0.007$ . Error bars represent 95% CI.



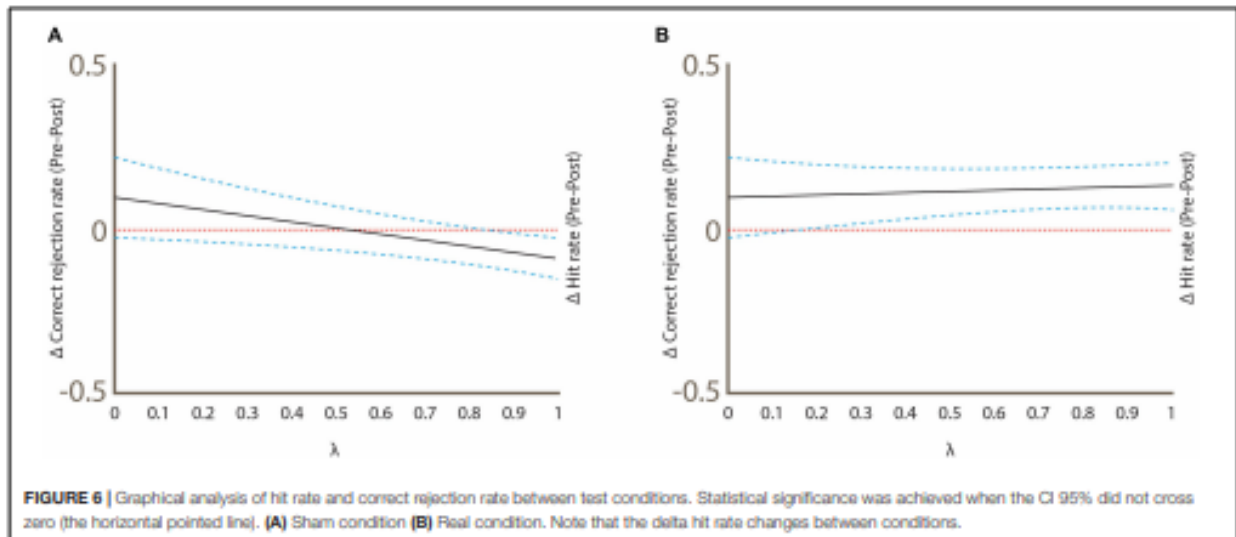
**FIGURE 5** | Score in the conscious olfactory perception task. No statistical significance was found when comparing the correct answers of both session types at baseline ( $p = 0.106$ ), but there was statistical significance between sham vs. real cTBS stimulation scores ( $p = 0.022$ ), and when baseline was compared with scores after both sham ( $p = 0.010$ ) and real cTBS ( $p = 0.017$ ).

A statistically significant two-way interaction between type of cTBS (sham vs. real) and time (baseline vs. post-stimulation) was found in the number of correct answers in the olfactory consciousness task,  $F(1, 14) = 25.020$ ,  $p < 0.0005$  partial  $\eta^2 = 0.641$ . No statistically significant main effects were observed for time and type of cTBS.

The interaction was further analyzed using paired sample *T*-tests. Given that there were multiple tests for simple main effects, the criterion for significance was adjusted to 0.025. Baseline correct answers were not statistically different between sham (mean = 4.86 SD =  $\pm 1.06$ ) and real cTBS sessions ( $5.56 \pm 1.12$ )  $t(14) = -1.726$ ,  $p = 0.106$ . This changed after the intervention, since correct answers after the sham cTBS intervention (mean = 5.60 SD =  $\pm 0.91$ ) were statistically different than correct answers after the real cTBS intervention ( $4.73 \pm 1.16$ ),  $t(14) = 2.578$ ,  $p = 0.022$ ,  $d = 0.665$ .

Time affected performance in both the real and sham cTBS session; but, in opposite directions: correct answers pre-intervention (mean = 4.86 SD =  $\pm 1.06$ ) were statistically different than post-intervention (mean = 5.60 SD =  $\pm 0.91$ ) in the sham session  $t(14) = -2.955$ ,  $p = 0.010$ ,  $d = -0.762$ , while correct answers in the real cTBS pre-intervention ( $5.56 \pm 1.12$ ) were also statistically different than those after the intervention ( $4.73 \pm 1.16$ )  $t(14) = -2.703$ ,  $p = 0.017$ ,  $d = 0.697$ .

**Figure 6** shows the graphical analysis of hit rate and correct rejection rate between conditions. The difference between baseline vs. post-sham hit rate was statistically significant ( $\Delta = -0.0889$ , 95% CI,  $-0.151$  to  $-0.026$ ; **Figure 6A**), while the baseline vs. post-sham correct rejection rate was not ( $\Delta = 0.100$ , 95% CI,  $-0.025$  to  $0.221$ ; **Figure 6A**). In the baseline vs. post-real cTBS hit rate difference was also significant but in opposite direction ( $\Delta = 0.133$ , 95% CI,  $0.0594$  to  $0.205$ ; **Figure 6B**), while the correct rejection rate was again not significant ( $\Delta = 0.100$ , 95% CI,  $-0.024$  to  $0.2187$ ; **Figure 6B**).



## DISCUSSION

Elucidating the function of the rOFC in conscious perception is not an easy task. Several arguments suggest that the rOFC is the neural substrate for conscious olfactory perception. First, the rOFC is a neocortical structure; all of the other sensorial modalities in which neural correlates of consciousness have been closely mapped to brain processes are located in neocortical structures (Parvizi et al., 2012). Second, the rOFC has a functional connection to the thalamus (Plailly et al., 2008) and this structure is considered to be essential for the rise of conscious experience (Edelman and Gally, 2013; Nigri et al., 2016). Third, the rOFC integrates multimodal experiences (Rolls and Baylis, 1994) and conscious experiences require multimodal integration to arise (Mori et al., 2013); therefore, the rOFC may be fulfilling this role for the olfactory modality. And lastly, previous neuroimaging and lesion studies showed that rOFC activity correlates better with conscious perception than any other olfactory structure (Poellinger et al., 2001).

Previously, Li et al. (2010) reported a subject with a specific post-stroke lesion of the rOFC and consequent loss of conscious olfactory perception. As the integrity of the rest of neural olfactory areas was ensured by neuroimaging techniques and preservation of unconscious olfactory perception was corroborated, this study gave major support to the hypothesis of the rOFC as the neural correlate of olfactory consciousness. However, it is impossible to determine if the change in the neural-function is a direct consequence of the lesion or to the lesion-related plasticity (Rorden and Karnath, 2004).

Our results support the hypothesis that the rOFC is an important node of the complex network required for conscious olfactory perception. As measured by our task, cTBS over rOFC impaired conscious olfactory perception affecting a statistically significant interaction between time and type of stimulation, but without statistically altering the main effects. This can be interpreted as no overall effect of either time or type of

stimulation but to evidence of a crossover interaction. The effect of time on the score was opposite depending on the stimulus received. Our results showed the score improved in respect to baseline after sham cTBS, while the contrary pattern was observed in the real cTBS. This result is corroborated by signal detection theory: the hit rate increased after sham cTBS compared with baseline, while it decreased after real cTBS. The hit rate is a proportion between the hits (true positives) and the number of odorant stimuli presented in each session; this means that cTBS affected the number of hits subjects scored. Correct rejection rates were not affected in both sham and real cTBS.

Score improvement after sham cTBS could be attributed to a learning process or an improved sensitivity to the odors; repeated exposure to odorants may cause experience-dependent plasticity in the piriform and orbitofrontal cortex (Li et al., 2006). A study by Huang et al. (2007) found cTBS generates a long-term depression-like activity in the brain which may impair the normal plasticity of rOFC. Therefore, according to these studies, the decrease in scores may be due to a failure in the learning process, and not necessarily to a failure in conscious perception. Nevertheless, the study of Li et al. (2006) used a much higher concentration of odorants, and the task reported assessed the similarity of odorants, not the presence or absence of them. If the effects observed in our experiments were due to an interruption in the learning process, not only the right OFC but also the piriform cortex and the left OFC, would have to have been affected, which is unlikely due to the high focality of cTBS.

Attention to stimuli strengthens the connection of the mediodorsal nucleus of the thalamus with the OFC (Plailly et al., 2008). Disruption of the rOFC activity may generate a malfunction of the mediodorsal thalamus-OFC circuit and therefore impair performance of the task. To overcome this limitation, subjects were always cued with an auditory stimulus before application of the odorant; also, it is unlikely that diminished attention would affect our results given that

conscious olfactory perception may arise with a minimum of attention (Carskadon and Herz, 2004).

As low odorant concentration could diminish conscious olfactory perception due to under stimulation of the system and a high odorant concentration could produce habituation to the stimuli (Merrick et al., 2014), we individualized ODT for each of the odorants in every session. Overall, the ODT of our subjects did not change between sessions; therefore, the probability of bias due to this factor is reduced. Although, the role of the rOFC in habituation is more complex than it may seem. Poellinger et al. (2001) showed that the rOFC might top-down habituation of the system; therefore, the possibility that cTBS caused habituation to stimuli by inhibiting rOFC cannot be discarded. However, Poellinger used long-lasting stimuli (at least 60 s), whereas our stimuli lasted 5 s. Therefore, it is unlikely that the mechanism of impaired performance is due to facilitated habituation.

Emotionally salient odorants affect high order olfaction functions in the rOFC (Gottfried et al., 2002). To prevent a possible bias related to the personal and emotional response that odorants evoked in the subjects, three different odorants with different pleasantness were chosen. Unexpectedly, most of the subjects rated the pleasantness of odorants near zero (a neutral odorant, neither enjoyable nor unpleasant) and no differences between sessions were noted. This can be explained by the low concentration in which the odorants were administered, considering that low stimuli concentration evoke low hedonic responses (Doty, 1975).

Disruption of the rOFC in non-human primates (Iversen and Mishkin, 1970) and humans, impairs performance in the Go/no-go task (Drummond et al., 2017). To ensure an adequate effect of the cTBS, we used the Go/no-go task performance as a proxy measurement of correct cTBS application. Subjects had more mistakes in the real cTBS session compared with the sham cTBS session, which indicates subjects presented motor disinhibition in the real cTBS session; this result is consistent with the current literature (Drummond et al., 2017). No visual changes were reported during or after the stimulation, which in addition to the results of the Go/no-go task reveal silence in the visual sensory modality. The rOFC has been linked to decision making when exposed to ambiguous olfactory stimuli (Bowman et al., 2012). Then, both motor disinhibition and an impaired ability to recognize olfactory stimuli presented in a random sequence could explain our results; however, new experiments are needed to confirm this hypothesis.

The other limitations of our study are: As neuroimaging was unavailable to corroborate the functional inhibition of rOFC, a Go/no-go task was used to resolve this limitation. Future studies employing an appropriate neuroimaging technique are necessary to corroborate these findings further. We could not test for the implication of brain lateralization on the studied phenomenon; a common bias could explain the existing paradigm that implicates the rOFC and not the left OFC in conscious olfactory perception: most of the studies only include right-handed subjects. More studies exploring changes between left vs. right cTBS, uni- vs. bilateral odorant presentation and left- vs. right-handed are needed to clarify brain lateralization in the function of OFC in conscious olfactory perception. Another limitation that

should be remarked is genre: two-thirds of our subjects were women; this could implicate a bias and an obstacle for external validity. Women have a different sensitivity for olfaction, and their olfaction can be altered by the menstrual cycle and contraceptive pills; these variables were not controlled in the present study (Navarrete-Palacios et al., 2003; Derntl et al., 2013). Bigger sample sizes are needed to accurately describe whether gender affects the role of the rOFC in conscious olfactory perception.

## CONCLUSION

Previous research with neuroimaging and lesion studies has shown that rOFC activity may be deeply correlated with conscious olfactory perception. We confirmed this relationship and also showed that a temporal pattern between rOFC and conscious olfactory perception could be drawn. However, our results should be read carefully; as stated before, there are many higher-order olfactory functions attributed to the OFC. More experiments that are specifically designed to test learning, attention, habituation and multimodal integration of olfactory odorants are needed to correctly dissect how the cTBS affects the wide spectrum of olfactory functions that are attributed to the rOFC.

cTBS over the rOFC appeared to affect conscious olfactory perception. The exact mechanism of this impairment is unclear and could be explained by the disruption of other cognitive functions related to the rOFC; however, the continued application of cTBS in research related to the neuroscience of olfaction could help to answer many of these questions.

## ETHICS STATEMENT

The study protocol was reviewed and accepted by the research and ethics committee of Hospital General "Dr. Manuel Gea González"; protocol number 49-54-2018 and was conducted per the Declaration of Helsinki.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

GV and AM-P were responsible of performing the experiments. All authors read and approved the final version of this manuscript and contributed to the data analysis and experimental design.

## FUNDING

GV is a doctoral student from Plan de Estudios Combinado en Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) and received fellowship 727778 from CONACYT. This project was part of a collaboration between the UNAM and the Hospital General Dr. Manuel Gea González (UNAM-HGMGG/2012).