

Máster en Neurociencia curso 2015-1016



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Efectos de los campos magnéticos estáticos aplicados en M1 sobre la excitabilidad de los circuitos corticales inhibitorios de corta latencia

Efectos dos campos magnéticos estáticos aplicados en M1 sobre a excitabilidade dos circuitos corticais inhibitorios aferentes de curta latencia

Effects of static magnetic field stimulation over the motor cortex on the excitability of the short afferent inhibitory circuits

Beatriz Puerta Catoira

TRABALLO DE FIN DE MÁSTER

Pablo Arias Rodríguez e Casto Rivadulla Fernández autorizan a presentación do traballo fin de máster realizado por Beatriz Puerta Catoira, e titulado **“Efectos de los campos magnéticos estáticos aplicados en M1 sobre la excitabilidad de los circuitos corticales inhibitorios de corta latencia”** para a súa defensa ante o tribunal cualificador.

A Coruña, a 12 de xullo de 2016

ARIAS RODRIGUEZ
PABLO - DNI
33300914L

Asdo. Pablo Arias (Titor)

Casto Rivadulla

Firmado digitalmente por Casto Rivadulla
Nombre de reconocimiento (DN):
cn=Casto Rivadulla, o=Univ da Coruña, ou=Facultade Ciencias da Saúde, email=casto@udc.es, c=<n
Fecha: 2016.07.12 10:48:28 +02'00'

Asdo. Casto Rivadulla (Director)

BREVE DESCRIPCIÓN DO CONTIDO (Xustificación, obxectivos, deseño e planificación)

Xustificación e obxectivos:

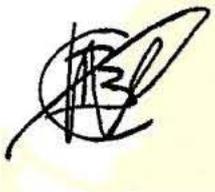
A estimulación magnética transcraneal estática (EMEt) é unha técnica que permite a reducir a excitabilidade do sistema cortico-espiñal. Tense observado que ditos efectos son debido a un cambio na excitabilidade cortical e non espiñal, sen embargo os mecanismos e circuitos corticais implicados en dito efecto non son coñecidos. No presente estudo pretendemos explorar os efectos da estimulación magnética con campos estáticos na excitabilidade dos circuitos inhibitorios corticais afferentes de curta latencia.

Deseño e planificación:

- Desenrolo das sesións experimentais (Xaneiro-Marzo)
- Análisis, avaliación e redacción dos resultados obtidos no laboratorio (Marzo -Xuño)
- Presentación do TFM (Xullo)

A Coruña, 14 de enero de 2016

O/A ALUMNO/A



O/A DIRECTOR/A



O/A TITOR/A



Abstract

Static magnetic fields have shown to be able to modulate of motor cortex excitability, and their effects remain for a period that outlasts the time of the application of the magnetic field. In the present study we tried to find out if the cortex excitability change induced by static magnetic fields could produce effects on short latency afferent inhibition circuits. Short latency afferent inhibition is a cortical inhibition which has been proved by electromyographic recordings in motor evoked potentials generated by transcranial magnetic stimulation, if combined with percutaneous electric stimulation on a mixed nerve. This inhibitory effect occurs when the electric stimulation is delivered around 20ms before the magnetic pulse.

We evaluated short latency afferent inhibition before and after the application of a magnetic static field during 20' (in one session); or a sham (in another session). Data from 8 subjects were analyzed. The data indicated no modulation of short latency afferent inhibition circuits by transcranial static magnetic stimulation.

Key words: short latency afferent inhibition, transcranial static magnetic stimulation, static magnetic fields, transcranial magnetic stimulation.

Resumen

Los campos magnéticos estáticos han mostrado ser capaces de modificar la excitabilidad cortical, y que sus efectos perduran más allá del tiempo de estimulación. En el presente estudio hemos tratado de averiguar si esta modificación de la excitabilidad cortical produciría efectos sobre los circuitos de inhibición aferente de latencia corta. La inhibición aferente de latencia corta es una inhibición cortical que ha sido comprobada mediante registros electromiográficos de potenciales evocados motores generados por estimulación magnética transcranial combinada con estimulación eléctrica percutánea sobre un nervio mixto. Este efecto inhibitorio se produce cuando la estimulación eléctrica precede a la magnética alrededor de unos 20ms.

El protocolo consistió en evaluación de la inhibición aferente de corta latencia antes y después de la aplicación de un campo magnético estático durante 20' (en una sesión); o de un placebo (en otra sesión). Fueron analizados los datos correspondientes a 8 sujetos. Los datos no indicaron afectación de los circuitos de inhibición aferente de latencia corta por la estimulación magnética estática transcraneal.

Palabras clave: inhibición aferente de latencia corta, estimulación magnética estática transcraneal, campos magnéticos estáticos, estimulación magnética transcraneal.

Índice

1. Introducción.....	8
2. Objetivos.....	13
3. Métodos.....	14
<i>Participantes.....</i>	<i>15</i>
<i>Instrumentos.....</i>	<i>16</i>
<i>Procedimiento.....</i>	<i>18</i>
<i>Análisis de datos.....</i>	<i>21</i>
4. Resultados.....	22
5. Discusión.....	28
6. Conclusiones.....	30
7. Bibliografía.....	31
8. Índice de figuras.....	35
9. Índice de tablas.....	37

1. Introducción

Inhibición cortical de corta latencia

La estimulación magnética transcraneal (EMT) nos permite distinguir entre una variedad de procesos excitatorios e inhibitorios en el cortex motor humano. Varias formas de inhibición pueden ser aisladas en base a sus perfiles farmacológicos (Chen, 2004). Una de estas formas de inhibición cortical es la inhibición aferente de latencia corta (IAC), que se refiere a una inhibición cortical comprobada mediante potenciales evocados motores (PEM) generados por un estímulo eléctrico condicionante en un nervio mixto de la mano (Tokimura et al., 2000). Este efecto inhibitorio depende del intervalo entre estímulos, siendo los estímulos la estimulación sensorial condicionante y el pulso de EMT (el estímulo condicionado). El IAC se produce a unos 20 ms posteriores a la estimulación somatosensorial (Delwaide y Olivier, 1990; Tokimura et al., 2000), y es llamado de latencia corta ya que existe otra que ocurre con latencias mayores (a los 100ms aproximadamente) y que es denominada inhibición aferente de latencia larga (IAL) (Di Lazzaro et al., 2000b); los orígenes de ambas son distintos.

Delwaide y Olivier (1990) demostraron que la estimulación del nervio mediano en la muñeca podía suprimir las respuestas electromiográficas (EMG) evocadas en músculos de la mano mediante EMT en el cortex motor, si la latencia entre ambos estímulos estaba entorno a 18 y 21 ms. Efectos similares pueden observarse después de la estimulación del nervio cutáneo del dedo índice. Dado que los reflejos H en los músculos del antebrazo no fueron afectados, Delwaide y Olivier (1990) sugirieron que el efecto ocurre a nivel cortical y no a nivel espinal. Maertens de Noodhout et al. (1992) investigaron la secuencia de potenciales excitatorios e inhibitorios (Caccia et al., 1973) en el primer músculo dorsal interóseo (PDI) evocado mediante la estimulación eléctrica de los nervios digitales. Utilizaron la estimulación magnética transcraneal y estimulación eléctrica para demostrar que la excitabilidad cortical se ve reducida por la estimulación de los nervios digitales. Palmer y Ashby (1992) informaron del mismo resultado. Posteriormente, Bertolasi et al. (1998) encontraron que la estimulación en el nervio mediano podía suprimir la excitabilidad de las representaciones corticales de los

músculos extensores del antebrazo, mientras que la estimulación radial suprimía la de los músculos flexores del antebrazo.

Tokimura et al. (2000) confirmaron las observaciones iniciales de Delwaide y Olivier (1990) de que la estimulación del nervio mediano podía inhibir las respuestas electromiográficas en los músculos primer dorsal interóseo y el abductor corto del pulgar (inervados por el nervio cubital y mediano, respectivamente). Las evidencias apuntaban a que esto era debido a una disminución en la excitabilidad cortical. La estimulación del nervio mediano en un intervalo entre estímulos apropiado redujo la amplitud y el número de disparos corticoespinales descendentes provocados por estimulación magnética. Además observaron un efecto diferencial en las respuestas electromiográficas evocadas por estimulación cortical eléctrica (que no evalúa conexiones sinápticas intra-corticales en M1) y magnética (que sí lo hace). Así pues, concluyeron que los inputs aferentes cutáneos o mixtos de la mano pueden inhibir el cortex motor en una latencia extraordinariamente corta. La latencia del comienzo del efecto era solo de 5 ms después de la llegada del input aferente al cortex, e implicaba una vía relativamente directa entre corteza somatosensorial y motora. Sailer et al. (2003) también estudiaron el IAC pero compararon sujetos sanos con pacientes de Parkinson y sus resultados fueron coincidentes con los de Tokimura et al., (2000). Encontraron que el IAC era normal en el grupo de enfermos en fase de medicación Off (llevaban 12 horas sin tomar su mediación), por lo cual dedujeron que la interacción directa de la señal sensorial del nervio mediano con el output motor no parece estar afectada por la enfermedad de Parkinson. Sin embargo, el grupo en fase On si mostraron deficiencias en el IAC. A pesar de que es probable que los circuitos colinérgicos estén relacionados con el IAC (Di Lazzaro et al., 2000*b*) ya que sí se encuentra reducido en la enfermedad de Alzheimer (Di Lazzaro et al., 2002); ninguno de sus pacientes tomaba medicación anticolinérgica, por lo que déficit colinérgicos no podrían explicar esos resultados. La medicación dopaminérgica de los enfermos disminuía el IAC en el lado más afectado pero no en el menos afectado, sugiriendo que la reducción del IAC en los grupos On ocurría donde la enfermedad está más avanzada.

Sailer et al. (2003) no encontraron un IAC significativo con la estimulación del nervio mediano si la realizaban en más de 23ms (ni en sujetos enfermos ni sanos) confirmando los hallazgos de Tamburin et al. (2002). Dado que la medicación dopaminérgica modifica el IAC en la estimulación del nervio mediano pero no afecta a los resultados de la estimulación digital (Sailer et al., 2003), puede que

predominantemente afecte al procesamiento de la información aferente del músculo (ie. propioceptiva). De todas formas no pudieron descartar la contribución cutánea porque los efectos en la estimulación sensorial en la mano están organizados somatotópicamente (Classen et al., 2000; Tamburin et al., 2001, 2002). Además, anomalías en el IAC (y el IAL) potencialmente pueden llevar a la dificultad de determinar la posición de las articulaciones durante el movimiento y por consiguiente llevar a errores en el ajustes de la amplitud del movimiento (Berardelli et al., 1986) en la enfermedad de Parkinson.

Modulación de la excitabilidad cortical mediante protocolos de estimulación magnética

En experimentos animales ha sido posible probar y manipular la eficacia de la transmisión sináptica mediante la estimulación eléctrica repetida de las vías del sistema nervioso central (Cooke and Bliss, 2006). Esto llevó al descubrimiento del ampliamente estudiado fenómeno de potenciación a largo plazo y depresión a largo plazo de las conexiones sinápticas (Cooke and Bliss, 2006). La estimulación transcraneal repetitiva tiene un potencial obvio de imitar los efectos observados en modelos animales tras estimulación eléctrica repetitiva (Siebner and Rothwell, 2003). Otros métodos de estimulación han sido utilizados para intentar producir cambios en la plasticidad del cortex humano, por ejemplo la estimulación asociativa pareada (Stefan et al. 2005), estimulación magnética de ráfaga theta (Huang et al. 2005), o estimulación transcraneal de corriente directa (Nitsche et al. 2008). La mayoría de esos protocolos requieren periodos de condicionamiento que duran desde unos pocos minutos hasta decenas de minutos. Todas estas técnicas de estimulación se basan en la estimulación eléctrica del cerebro, son potencialmente incómodas para algunos sujetos, requieren dispositivos más caros, y necesitan personal altamente cualificado. Además, a la hora de ser utilizados en ensayos clínicos los modelos de estimulación placebo (Sham) son problemáticos dado que no reproducen fielmente las sensaciones producidas la estimulación real.

Los campos magnéticos estáticos han mostrado ser capaces de influenciar una gran variedad de sistemas biológicos (Rosen 2003; Coots et al. 2004). Además los efectos de la aplicación de campos magnéticos estáticos a diferentes preparaciones animales parecen tener un efecto que perdura posteriormente al tiempo de estimulación (Rosen and Lubowski, 1987). Recientemente se ha evaluado la viabilidad de este tipo de

estimulación para modificar la excitabilidad cortical; a diferencia de las técnicas neuromoduladoras anteriormente citadas, la estimulación por campos magnéticos no se basa en la aplicación de corrientes eléctricas a nivel cerebral. El efecto reducción de la excitabilidad cortical debido a la tSMS en humanos se ha estudiado en diversas partes del encéfalo: el sistema visual (González-Rosa et al., 2013), el cortex somatosensorial (Kirimoto et al., 2014) y el cortex motor (Oliviero et al., 2011). Es importante reseñar que recientemente se han publicados estudios de seguridad de la técnica para el uso en humanos (Oliviero et al., 2014).

Oliviero et al. (2011) utilizaron la EMT para evaluar cambios en la excitabilidad cortical debidos a la estimulación de un campo magnético estático (EMEt). Demostraron que la EMEt a una intensidad suficientemente alta disminuye la excitabilidad del cortex motor independientemente de la polaridad del campo magnético aplicado a M1. En el primer experimento estudiaron como la EMEt afectaba a la amplitud de los PEMs evocados mediante EMT en el cortex motor y obtuvieron una reducción entorno al 25% en los primeros 6 minutos posteriores a la EMEt real (pero no después del sham).

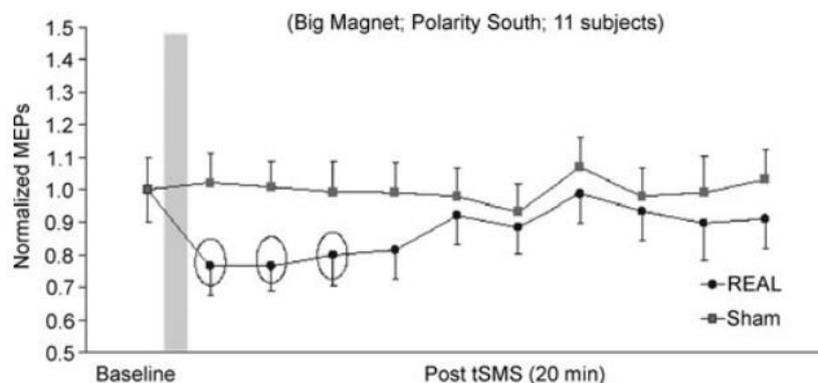


Figura 1: Resultados del experimento 2: efectos de la EMEt y la estimulación placebo en los MEP. Tomado de Oliviero et al. (2011)

El principal descubrimiento fue que la aplicación de la EMEt en humanos reduce el output del cortex motor durante unos minutos después del fin de la estimulación, tal y como podemos observar en la *Figura 1*. Por el contrario los parámetros de la estimulación eléctrica transcraneal no cambiaron después de la EMEt. La estimulación eléctrica transcraneal activa los axones de las neuronas piramidales directamente, por lo que evalúa la excitabilidad espinal, mientras que la EMT activa las interneuronas corticales que hacen sinapsis en las motoneuronas corticoespinales (i.e., neuronas

piramidales) (Di Lazzaro et al. 1998). Se cree que los campos magnéticos estáticos actúan primariamente en las sinapsis y se ha propuesto que estos campos alteran la función de los canales iónicos de las membranas (Rosen y Lubowsky, 1987; Rosen , 2003; Coots et al., 2004). Como la polaridad no era relevante para el efecto de la estimulación, dedujeron entonces que las moléculas o estructuras dianas podrían ser ferromagnéticas (atraídas por ambos polos) o diamagnéticas (repelidas por ambos polos).

A pesar de que la EMEt es una técnica de potencial uso de cara a la modulación de la excitabilidad cortical humana, la cantidad de estudios que se han realizados es reducida, por lo que su efecto sobre distintas funciones corticales debe de ser explorada. En este estudio hemos estudiado los efectos de la EMEt sobre los IAC.

2. **Objetivos**

Con este estudio piloto pretendemos conocer los efectos de la estimulación magnética transcraneal estática sobre la excitabilidad de los circuitos inhibitorios corticales aferentes de latencia corta (IAC).

La hipótesis establece una modulación en el IAC cuando aplicamos un campo magnético estático con respecto a cuando aplicamos un placebo.

3. **Métodos**

3.1 Participantes

10 sujetos sin patología, 9 diestros y una zurda, 3 mujeres y 7 hombres de edades comprendidas entre los 20 y 27 años, sin historia de trastornos neurológicos y/o psiquiátricos ni placas metálicas en el cráneo. Dos de los sujetos no llegaron a realizar el experimento debido a que no toleraron la estimulación eléctrica.

Los sujetos fueron voluntarios que nos proporcionaron su consentimiento informado, y los procedimientos estuvieron acordes con la Declaración de Helsinki. Los protocolos de estudio forman parte de un proyecto de investigación del grupo NEUROcom de la UDC, que cuenta con aprobación del CE.

3.2 Instrumentos

Los instrumentos utilizados forman parte de los materiales del grupo NEUROcom de la UDC, del cual el tutor y director del presente trabajo son miembros.



Figuras 2 y 3: Estimulador magnético y bobina (coil) respectivamente.

Para la estimulación magnética transcraneal se utilizó el estimulador magnético Magstim 200 (Magstim, Whiteland, Dyfed UK) que podemos observar en la *Figura 2* y una bobina en forma de 8 (coil, *Figura 3*). El coil fue colocado tangencialmente al cráneo a unos 45° de la línea media aproximadamente. Para determinar la posición óptima se tomó como referencia aquel punto en el que se obtuvo el potencial evocado motor de mayor amplitud para una intensidad fija en el músculo diana (primer dorsal interóseo). La posición óptima fue marcada en el cuero cabelludo para asegurar la misma colocación del coil durante todo el experimento.

En la *Figura 4* vemos el estimulador Digitimer DS7A con el que aplicamos la estimulación eléctrica en el nervio mediano, con pulsos de $500\mu\text{s}$ de duración, proporcionados percutáneamente mediante dos electrodos estándar ubicados en la muñeca, sobre el nervio mediano, con el cátodo posicionado proximalmente. La intensidad del estímulo fue ajustada en cada sujeto para producir una ligera contracción muscular.



Figura 4: Estimulador eléctrico.



Figura 5: Imán

Para la EMEt se utilizó un imán de níquel y cobre (Ni-Cu-Ni) cuyo diámetro era de 45 mm, su anchura era de 30 mm y su peso 360 gramos (modelo S-45 Supermagnete Gottmadingen, Alemania) que podemos observar en la *Figura 5*. En este imán, la cantidad máxima de energía magnética almacenada es de 45 megagauss-oerstedios, con una fuerza nominal de 765 N (78kg). Durante el periodo de estimulación, el imán fue sostenido sobre M1, sobre la zona de representación cortical del músculo primer dorsal interóseo (PDI) izquierdo. En las sesiones de estimulación real, la mitad de los sujetos fueron estimulados con el polo norte del imán hacia el cráneo, y la otra mitad con el sur. Durante el desarrollo del experimento en aquellas sesiones que se correspondían con estimulación placebo se utilizó un cilindro metálico de dimensiones y peso idénticos al imán.

El potencial evocado motor por la EMT se registró en el primer músculo dorsal interóseo izquierdo. Los registros electromiográficos se recogieron empleando electrodos adhesivos, un amplificador Digitimer D360 (digitimier, Welwyn Garden City, UK) con el que amplificamos (x1000) y filtramos (en un ancho de banda entre 3Hz y 3kHz) la señal de EMG, que fue recogida (10kHz) mediante un CED 1401 A/D (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) y el programa Signal 4, que también generaba y controlaba los TTL (transistor-transistor logic) y sus latencias para disparar los distintos estimuladores.



Figura 6: Amplificador y sistema de control analógico digital

3.3 Procedimiento

Cada uno de los sujetos acudió dos veces a realizar la misma sesión experimental con la diferencia de que en una se les aplicó estimulación magnética transcraneal estática real y en la otra se les aplicó un placebo (el orden de ambas fue al azar). Además previamente a la primera sesión a los sujetos se les explicó brevemente en qué consistía la investigación y tuvieron que firmar el consentimiento informado. Tras la última de las sesiones se les preguntó a los sujetos si habían notado diferencias entre ambas sesiones y cuando creían que había sido la estimulación real y la estimulación placebo.

Las sesiones experimentales incluían los siguientes procedimientos:

1. Una vez el sujeto accedía al laboratorio y depositaba sus pertenencias en una caja, se sentaba en una silla no reclinable en la que debía permanecer sin moverse ni hablar, y mientras se le daban las instrucciones, se le colocaban los tres electrodos correspondientes al registro de EMG y los dos electrodos correspondientes a la estimulación eléctrica.
2. Se identificaba el “hot spot” (el punto en el cual el potencial evocado motor presentaba una mayor amplitud) mediante EMT simple y se marcaba en el cuero cabelludo mediante un rotulador con el fin de asegurar que la estimulación se realizaba en el mismo punto durante todo el experimento.
3. Una vez identificado este punto se buscaba la amplitud del estímulo de EMT que permitía obtener un potencial evocado motor de 1mV.
4. Después se aplicaban 70 PEMs a la potencia de EMT anteriormente indicada separados unos de otros por un intervalo de 5-5.5 segundos. En 10 de ellos el PEM inducido por la EMT no era condicionado. En el resto el PEM se condicionaba con estímulo eléctrico en el nervio mediano, que se enviaba 20, 21... y hasta 25ms antes del pulso de EMT; 10 por cada latencia. Ello servía para determinar el intervalo óptimo entre la estimulación eléctrica periférica y la EMT para determinar el IAC.

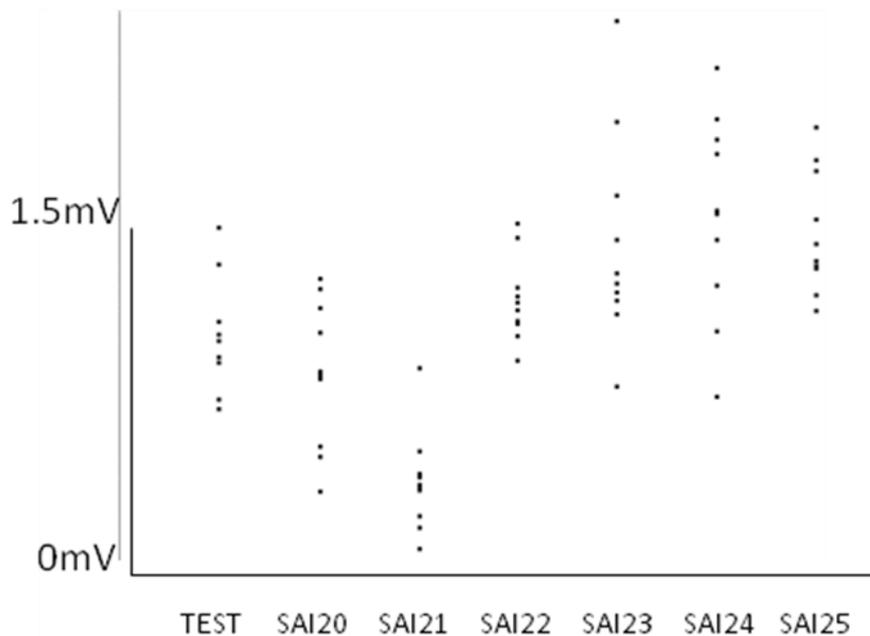


Figura 7. Ejemplo de patrón de inhibición en diferentes intervalos en uno de los sujetos de estudio; el eje y representa la amplitud de potencial. En este caso el intervalo de 21ms fue el elegido entre el pulso eléctrico y el magnético, de cara a optimizar la evaluación del IAC.

5. Posteriormente se realizó la evaluación PRE como línea base para conocer el efecto de la EMET, para ello se registraron 24 PEMs (12 Test en los que la EMT no era condicionada, y 12 IAC en los que la EMT era condicionada con el estímulos eléctrico, a la latencia óptima previamente determinada.
6. Tras esta condición el investigador que realizaba la EMT abandonaba el laboratorio para evitar saber si en dicha sesión se estaba realizando la EMET real o placebo. Tanto la real como el placebo eran aplicados durante 20 minutos sobre el “hot spot”.
7. Posteriormente se realizaban otros 3 bloques similares al PRE, denominados POST (1’ después de la EMET), POST2 (15’ tras EMET), y POST3 (30’ tras EMET). Cada uno de ellos estaba dividido en dos partes. Las dos partes estaban separadas entre si por 30s. En la primera parte de cada uno de los tres bloques se realizó con una intensidad de estimulación de la EMT igual a la del PRE (por lo que se denominará de *intensidad fija*). En la segunda parte la intensidad de la EMT incondicionada se ajustaba para obtener un PEM de amplitud similar al

obtenido en PRE (*amplitud fija*). Esto se realizó con el fin de descartar que los cambios en la amplitud del PEM aislada (producto de la EMEt) condicionasen la interpretación de la respuesta del IAC ante la EMEt.

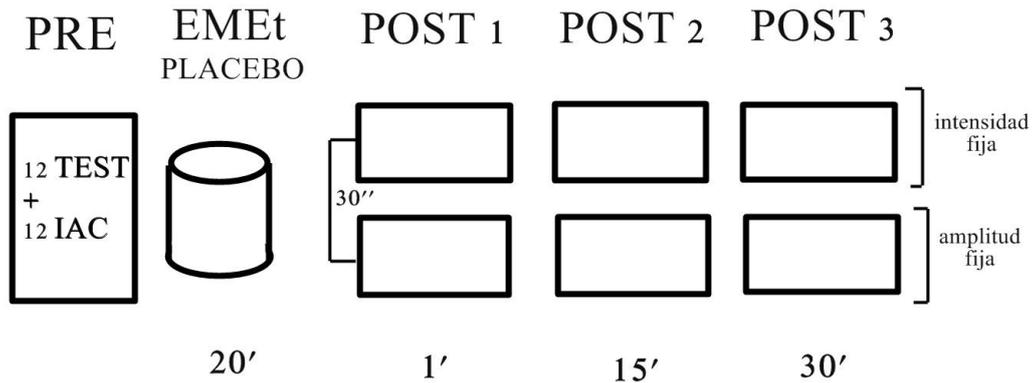


Figura 8: Esquema del procedimiento. En la fase PRE se aplicaron 12 estímulos en los cuales solo se estimulaba mediante EMT y 12 en los que la EMT era precedida por la estimulación eléctrica (IAC). Después se aplicaba durante 20 minutos EMEt o el placebo y a continuación se realizaban los registros POST1, POST2 y POST3, cada uno con su bloque a intensidad fija y su bloque a amplitud fija.

3.4 Procesamiento y análisis de datos

Los datos fueron registrados y procesados mediante el programa Signal 4.05 que permite caracterizar los distintos potenciales obtenidos. Para cada sujeto y sesión se superpusieron todos los registros con el fin de seleccionar solo aquella parte de la señal posterior a los estímulos magnéticos o eléctricos y no incluir otros posibles artefactos provocados por algún movimiento accidental del sujeto. El parámetro medido fue la amplitud del potencial evocado motor. Posteriormente se realizó el análisis estadístico con el programa SPSS 15.0.

Debido a que el tamaño muestral es bastante reducido (8 sujetos) primero se realizó la prueba de Kolmogorv-Smirnov de normalidad. Después se realizó una prueba T para muestras relacionadas para comparar diferencias en las medias entre las amplitudes de los potenciales Test el día de estimulación real vs. placebo.

Por último con el fin de analizar el posible efecto del campo magnético estático aplicado en el IAC se realizó un ANOVA de medidas repetidas, primero para los Test, y luego para los IAC. Analizamos las medidas del pre y tres post (factor TIEMPO); mientras que el factor ESTIMULACIÓN incluyó los valores del protocolo Real y del Placebo). Incluimos en una primera ANOVA los post con *intensidad fija*, y en una segunda ANOVA los post con *amplitud fija*. En el análisis de la ANOVA en el caso de no poder asumir esfericidad los grados de libertad se corrigieron mediante Greenhouse-Geisser. La significación estadística se consideró cuando el p-valor fue menor de 0.05.

4. Resultados

Comparación de los tamaños de los potenciales basales en ambas sesiones

Primero se compararon los tamaños de los potenciales registrados (incluyendo el valor mediana de los 12 potenciales en cada condición; nótese que en las tablas se indica el valor media, siendo la media grupal considerando las medianas individuales) en la fase TEST conjuntamente de la sesión real y la placebo.

Tabla 1: Estadísticos de muestras relacionadas. Comparamos las amplitudes de los registros electromiográficos en la TEST en ambos días del protocolo.

	Media	Desviación típica	Error típico de la media
TEST PRE MEP REAL	1'24153	0'718325	0'253966
TEST PRE MEP PLACEBO	1'25381	0'440608	0'155778

Los tamaños de los potenciales TEST previos a cualquier intervención no fueron significativamente diferentes ($p = 0.945$).

Efecto del estímulo eléctrico periférico sobre la amplitud de los potenciales.

Igualmente, antes de proceder con cualquier otro tipo de estimulación (en ambas sesiones) se comprobó que la presencia del estímulo periférico había producido una disminución en el tamaño de los potenciales, debido a la inhibición aferente de corta latencia.

Tabla 2: Amplitudes (mV) de los potenciales Test y IAC en ambas sesiones (Real y Placebo) antes de proceder a la exposición de la EMET..

Condición	Estimulación	Media	Error típico
TEST	REAL	1'243	0'254
	PLACEBO	1'254	0'156
IAC	REAL	0'670	0'140
	PLACEBO	0'667	0'288

El análisis ANOVA indicó un efecto principal del factor condición ($F(1,7)=12'963$, $p=0.009$), sin que hubiese un efecto del factor estimulación ($F(1,7)=0'000$, $p=0.983$) ni tampoco una interacción significativa entre ambos factores ($F(1,7)=0'002$, $p=0.962$).

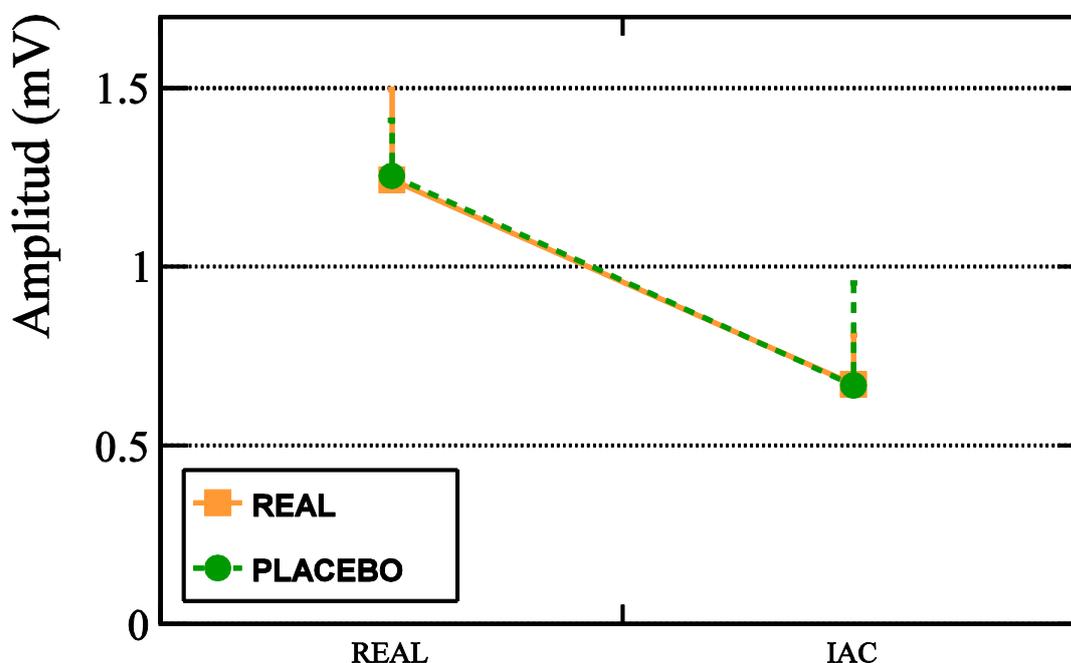


Figura 9: Representación gráfica de las media de las amplitudes en la fase PRE en las condiciones TEST e IAC, tanto cuando la estimulación posterior fue real como cuando fue un placebo. Se representa la media y el error estándar.

Tal y cómo podemos observar en la gráfica, la disminución de la amplitud del potencial resulta significativa cuando aplicamos una estimulación eléctrica previa a EMT, esto es debido a la inhibición aferente de corta latencia (IAC).

Efecto de la aplicación del imán en los potenciales TEST e IAC a lo largo del tiempo

A intensidades fijas

Para medir el efecto de la aplicación de la EMET se analizó el factor TIEMPO. En la primera parte de estos tres bloques la intensidad de la estimulación de la EMT era igual al PRE, por ello se denominó de intensidades fijas. El otro factor utilizado fue el factor ESTIMULACIÓN (real o placebo) y se analizaron por separado las condiciones test e IAC.

Tabla3: Tamaño del potencial Test (mV) con respecto a los factores “estimulación” y “tiempo”.

Estimulación	Tiempo	Media	Error típico
REAL	PRE	1'243	0'254
	POST1	0'851	0'214
	POST2	1'135	0'355
	POST3	1'132	0'246
PLACEBO	PRE	1'254	0'156
	POST1	1'320	0'350
	POST2	1'203	0'279
	POST3	1'045	0'356

Para el tamaño del potencial TEST, el análisis ANOVA indicó que tanto los factores “estimulación” ($F(1,7)=2'745$, $p=0'142$) y “tiempo” ($F(3,21)=0'681$, $p=0'574$) como su interacción ($F(3,21)=1'668$, $p=0'231$) no fueron significativos.

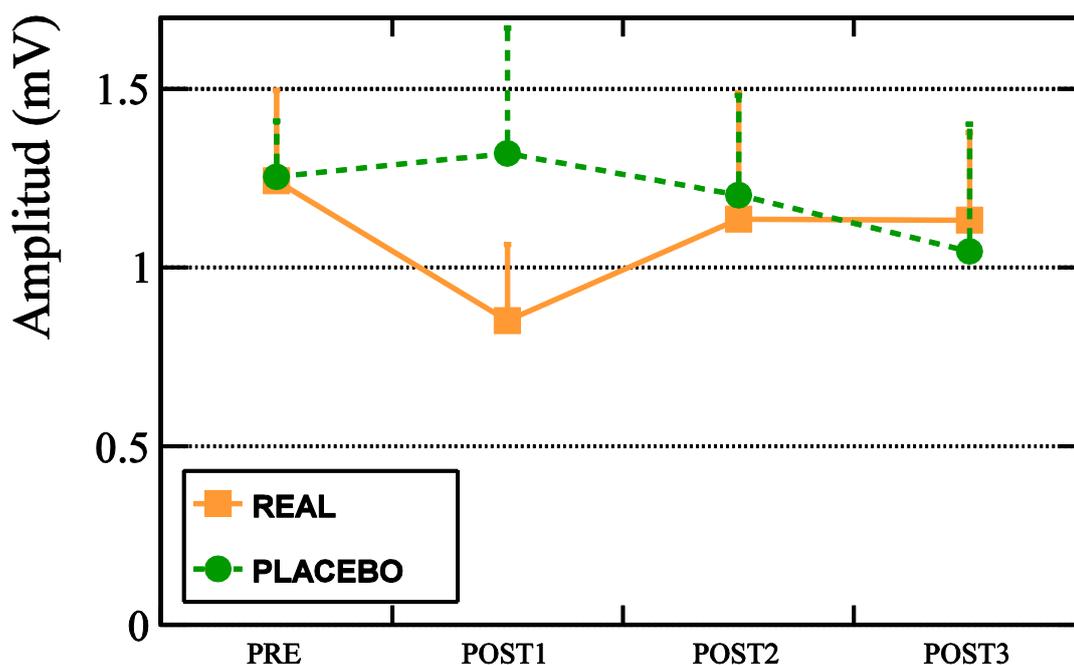


Figura 13: Representación gráfica de los efectos de la EMEt con respecto al placebo sobre la amplitud de los potenciales TEST en la condición de intensidad fija. Se representan la media y el error típico.

Para el tamaño del potencial IAC, el análisis ANOVA indicó que tanto los factores “estimulación” ($F(1,7)=0'046$, $p=0'836$) y “tiempo” ($F(3,21)=0'365$, $p=0'674$) como su interacción ($F(3,21)=0'967$, $p=0'402$) no fueron significativos.

Tabla 4: Tamaño del potencial (mV) IAC con respecto a los factores “estimulación” y “tiempo” en la condición de intensidad fija.

Estimulación	Tiempo	Media	Error típico
REAL	PRE	0'670	0'140
	POST1	0'797	0'328
	POST2	0'526	0'131
	POST3	0'855	0'248
PLACEBO	PRE	0'667	0'288
	POST1	0'706	0'250
	POST2	0'721	0'273
	POST3	0'547	0'196

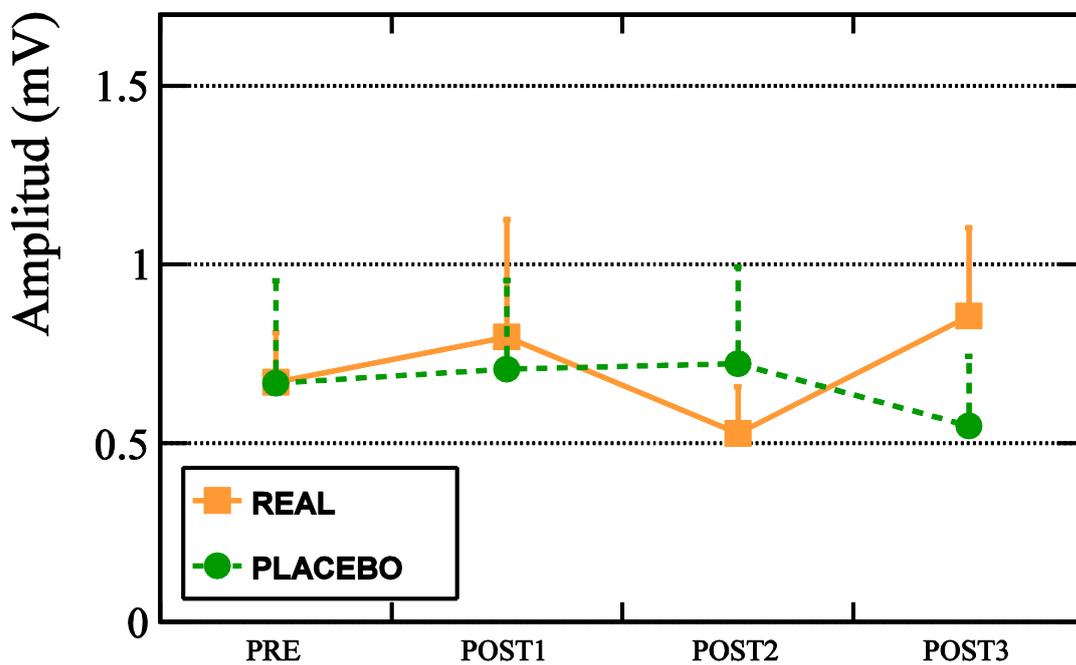


Figura 11: Representación gráfica de los efectos de la EMET con respecto al placebo sobre la amplitud de los potenciales IAC en la condición de intensidad fija. Se representan la media y el error típico.

En la figura 11 observamos como la diferencia en la amplitud de los potenciales cuando la EMET era real y cuando era placebo es mínima y los análisis estadístico nos mostraron que era no significativa.

A amplitudes fijas

A continuación analizamos los potenciales del TEST y del IAC en la segunda parte de cada bloque, a amplitud fija en la que la intensidad de la EMT había sido

incrementada hasta obtener potenciales de amplitudes similares a los obtenidos en el PRE. Los dos factores utilizados también fueron TIEMPO y ESTIMULACIÓN.

Para el tamaño del potencial TEST, el análisis ANOVA indicó que los factores “estimulación” ($F(1,7)=1'019$, $p = 0'346$) y “tiempo” ($F(3,21)=0'860$, $p = 0'477$) no fueron significativos. La interacción entre ambos tampoco resultó significativa ($F(3,21)=0'757$, $p=0'492$) tal y como podemos observar en la *figura 17* en ambos tipos de estimulación las amplitudes corren prácticamente paralelas.

Tabla 5: Tamaño del potencial (mV) TEST con respecto a los factores “estimulación” y “tiempo” en la condición de amplitud fija.

Estimulación	Tiempo	Media	Error típico
REAL	PRE	1'243	0'254
	POST1	1'278	0'280
	POST2	1'181	0'270
	POST3	1'352	0'299
PLACEBO	PRE	1'254	0'156
	POST1	1'086	0'218
	POST2	0'979	0'165
	POST3	1'048	0'078

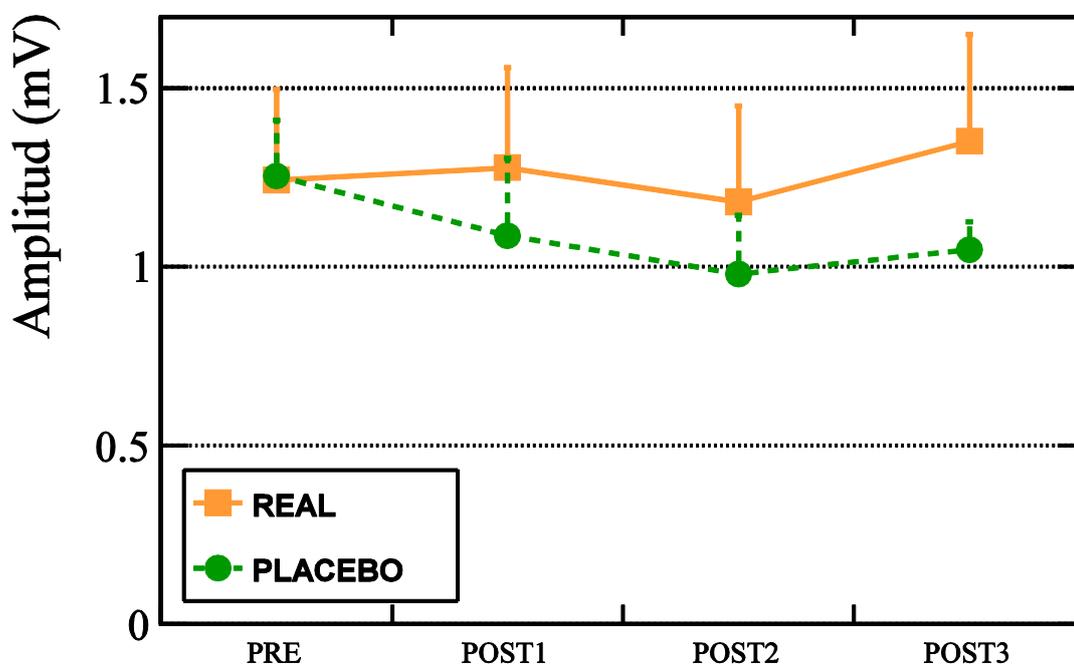


Figura 12: Representación gráfica de los efectos de la EMET con respecto al placebo sobre la amplitud de los potenciales TEST en la condición de amplitud fija. Se representan la media y el error típico.

Para el tamaño del potencial IAC, el análisis nos mostró que ninguno de los factores “estimulación” ($F(1,7)=3'770$, $p=0'093$) y “tiempo” ($F(3,21)=0'290$, $p=0'682$) fueron significativos ni la interacción entre ellos ($F(3'21)=$, $p=0'674$). Podemos observar en la *Figura 13* como las amplitudes más altas se observan cuando la estimulación era real, pero que la diferencia con respecto a la estimulación placebo no es significativa.

Tabla 6: Tamaño del potencial (mV) IAC con respecto a los factores “estimulación” y “tiempo” en la condición de amplitud fija.

Estimulación	Tiempo	Media	Error típico
REAL	PRE	0'670	0'140
	POST1	0'782	0'197
	POST2	0'756	0'261
	POST3	0'732	0'203
PLACEBO	PRE	0'667	0'288
	POST1	0'551	0'194
	POST2	0'558	0'133
	POST3	0'494	0'123

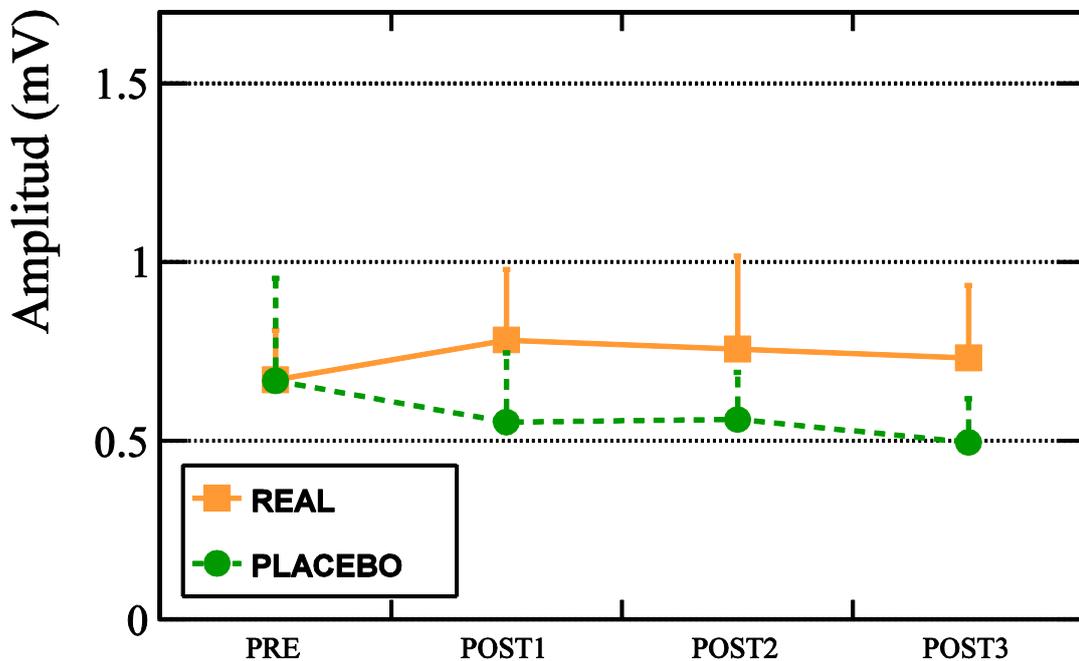


Figura 19: Representación gráfica de los efectos de la EMEt con respecto al placebo sobre la amplitud de los potenciales IAC en la condición de amplitud fija. Se representan la media y el error típico.

5. Discusión

En el presente trabajo se planteó la posibilidad de observar en los circuitos aferentes inhibitorios de corta latencia (IAC), los efectos debidos a la estimulación magnética transcraneal estática. Estos efectos no son conocidos, si bien existen estudios previos sobre el efecto de los campos magnéticos estáticos en la excitabilidad corticoespinal en humanos (Oliviero et al., 2011; González-Rosa et al., 2013; Kirimoto et al., 2014).

Empleamos la técnica de EMT ya que había sido utilizada con anterioridad en experimentos similares (Oliviero et al., 2011). La EMET tiene como ventaja frente a otras técnicas que no requiere protocolos de condicionamiento y no produce sensaciones conscientes en el sujeto lo cual posibilita la aplicación del un placebo que no se distinga de la estimulación real. Además ninguna de las dos son dolorosas, ni invasivas (por lo que pueden utilizarse en humanos) y sus efectos no son permanentes y son seguras (Oliviero et al., 2014).

El registro electromiográfico se realizó en el primer músculo dorsal interóseo ya que resulta cómodo para el registro en sujetos humanos. Además de haber sido extensamente estudiado por Maertens de Noodhout et al. (1992) y de haber sido utilizado para observar el IAC en estudios previos (Palmer y Ashby, 1992; Tokimura et al., 2000; Sailer et al., 2003).

Durante el estudio pudimos comprobar la inhibición aferente de latencia corta tal alrededor de los 20ms tal y como observaron previamente Delwaide y Olivier (1990) y Tokimura et al. (2000). No obstante Delwaide y Olivier (1990) habían observado que el IAC se producía entre los 18 y los 21ms. Posteriormente Tokimura et al. (2000) encontraron que a los 18ms no se producía IAC, sino que empezaba a los 19ms y que era máxima a los 21ms. Sailer et al. (2003) no pudieron observar el IAC a partir de los 23ms, a pesar de que utilizaron la estimulación del nervio mediano tal y como en el presente trabajo. Dado el relativamente amplio intervalo en el que ocurre esta inhibición en este estudio buscamos el intervalo entre estímulos óptimo para cada sujeto.

En este experimento hemos utilizado el método de doble ciego (en el cual ni el sujeto ni el experimentador que aplicaba la EMT sabían cuando la EMET era real y cuando era placebo) con el fin de que las respuestas no estuvieran condicionadas por el

conocimiento de que la estimulación estaba siendo aplicada, ni se favoreciese mediante el movimiento de la bobina de estimulación el aumento o la disminución de las respuestas.

El efecto del IAC fue significativo ($p < 0.05$) sobre la amplitud del PRE antes de aplicar la estimulación estática real o placebo (tal y como era de esperar debido a estudios como Delwaide y Olivier, 1990; Tokimura et al., 2000 y Sailer et al., 2003; Bikmullina et al., 2009).

La aplicación del campo magnético estático resultó no ser significativa sobre el potencial TEST cuando las intensidades eran fijas a pesar de que estudios previos tanto en humanos (Oliviero et al., 2011) como en primates (Rivadulla et al., 2013), demostraron efectos más duraderos sobre la excitabilidad cortical. No obstante en el POST1 si podemos observar una reducción considerable en la amplitud de los potenciales cuando la estimulación fue real respecto a cuando fue placebo, el hecho de que esta diferencia no fuese significativa puede ser debido al tamaño muestral.

Tampoco cuando se utilizó una amplitud fija pudieron observarse diferencias significativas, esto pudo ser debido a que el hecho de aumentar la amplitud de la EMT se contrarrestase el efecto de disminución del potencial debido a la EMET, lo cual era básico para una correcta interpretación de los resultados de la aplicación del imán en la IAC.

No se observaron diferencias significativas entre la aplicación de la estimulación real y el placebo en el IAC ni en el factor tiempo (transcurrido desde la EMET), ni cuando se utilizó la intensidad fija ni cuando se utilizó la amplitud fija. De echo se observa en ambas condiciones la amplitud del potencial es mayor (aunque no significativamente) cuando aplicamos la estimulación real con respecto a cuando aplicamos el placebo, lo cual es contrario a lo que cabría esperar debido a los estudios anteriores, que si bien no estudian el IAC específicamente, si han demostrado la disminución de la excitabilidad cortical en la corteza motora (Oliviero et al., 2011).

En resumen no hemos hallado evidencias de que la aplicación de un campo magnético estático transcraneal tenga efectos sobre los circuitos de inhibición aferente de latencia corta.

6. Conclusiones

1. La aplicación de un campo magnético estático de forma transcraneal no parece tener efecto sobre la excitabilidad de los circuitos aferentes de latencia corta en la muestra de estudio.
2. Que estas diferencias no fueran significativas pudo ser debido al número reducido de la muestra de estudio (n=8).

7. Bibliografía

Berardelli, A., Dick, J.P., Rothwell, J.C., Day, B.L. & Mardsen, C.D. (1986). Scaling of the size of the first agonist EMG Bursa during rapid wrist movements in patients with Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 49, 1273-1279.

Bertolasi, L., Priori, A., Tinazzi, M., Bertasi, V. & Rothwell, J.C. (1998). Inhibitory action of forearm flexor muscle afferents on corticospinal outputs to antagonist muscles in humans. *Journal of Physiology*, 511, 947-956.

Caccia, M.R., McComas, A.J., Upton, A.R. & Blogg, T. (1973). Cutaneous reflexes in small muscles of the hand. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 36, 960-977.

Chen, R. (2004). Interactions between inhibitory and excitatory circuits in the human motor cortex. *Exp Brain Res*, 154, 1-10.

Classen, J., Steinfelder, B., Liepert, J., Stefan, K., Celnik, P., Cohen, L.G., et al. (2000). Cutaneomotor integration in humans is somatotopically organized at various levels of the nervous system and is task dependent. *Exp Brain Res*, 130, 48-59.

Cooke, S.F. & Bliss, T.V. (2006). Plasticity in the human central nervous system. *Brain*, 129, 1659-1673.

Coots, A., Shi, R. & Rosen, A. (2004). Effects of a 0.5-T static magnetic field on conduction in guinea pig spinal cord. *Journal of the Neurological Sciences*, 222, 55-57.

Cudeiro, J., Arias, P., Robles, V. & Corral, Y. (2015) Fundamentos de neurociencia y neurorrehabilitación en terapia ocupacional. España: Síntesis.

Delwaide, P.J. & Olivier, E. (1990). Conditioning transcranial cortical stimulation (TCCS) by exteroceptive stimulation in Parkinsonian patients. *Advances in Neurology*, 53, 175-181.

Di Lazzaro, V., Oliviero, A., Meglio, M., Cioni, B., Tamburrini, G., Tonali, P. & Rothwell, J.C. (2000a), Direct demonstration of the effect of lorazepam on the excitability of the human motor cortex. *Clinical Neurophysiology*, 111, 794-799.

Di Lazzaro, V., Oliviero, A., Profice, P., Pennisi, M.A., Di Giovanni, S., Zito, G., Tonali, P. & Rothwell, J.C. (2000b), Muscarinic receptor blockade has differential effects on the excitability of intracortical circuits in human motor cortex. *Exp Brain Res*, 135, 455-461.

Di Lazzaro, V., Oliviero, A., Tonali, P., Marra, C., Daniele, A., Profice, P., et al. (2002). Noninvasive in vivo assessment of cholinergic cortical circuits in AD using transcranial magnetic stimulation. *Neurology*, 59, 392-397.

González-Rosa, J.J., Soto-Leon, V., Foffani, G., Strange, B. & Oliviero, A. (2013). Effects of transcranial static magnetic field stimulation (tSMS) over the human visual cortex: Behavioural and electrophysiological effects. *Clinical Neurophysiology*, 124 (10), 62-63.

Hallett, M. (2000). Transcranial magnetic stimulation and the human brain. *Nature*, 406, 147-150.

Huang, Y.Z., Edwards, M.J., Rounis, E., Bhatia, K.P. & Rothwell, J.C. (2005). Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron*, 45, 201-206.

Kirimoto, H., Tamaki, H., Matsumoto, T., Sugawara, K., Suzuki, M., Oyama, M. & Onishi, H. (2014). Effect of transcranial static magnetic field stimulation over the sensorimotor cortex on somatosensory evoked potentials in humans. *Brain Stimulation: Basic, Translational, and Clinical Research in Neuromodulation*, 6(7), 836 – 840.

Maertens de Noordhout, A., Rothwellm J.C., Day, B.L., Dressler, D., Nakashima, K., Thompson, P.D. & Marsden, C.D. (1992). Effect of digital nerve stimuli on responses to electrical or magnetic stimulation of the human brain. *Journal of Physiology*, 447, 535-548.

Nitsche, M.A., Cohen, L.G., Wassermann, E.M., Priori, A., Lang, N., Antal, A., Paulus, W., Hummel, F., Boggio, P.S., Fregni, F. & Pascual-Leone, A. (2008). Transcranial direct current stimulation: state of the art 2008. *Brain Stim*, 1, 206-223.

Oliviero, A., Mordillo-Mateos, L., Arias, P., Panyavin, I., Foffani, G. & Aguilar, J. (2011). *Journal of Physiology*, 589.20, 4949-4958.

Oliviero, A., Carrasco-López, M.C., Campolo, M., Pérez-Borrego, Y.A., Soto-León, V., González-Rosa, J.J., Higuero, A.M., Strange, B.A., Abad-Rodríguez, J. & Foffani, G. (2014). Safety study of transcranial static magnetic field stimulation (tSMS) of. The human cortex. *Brain Stimulation*, 8(3), 481-485.

Palmer, E. & Ashby, P. (1992). The transcortical nature of the late reflex responses in human small hand muscle to digital nerve stimulation. *Experimental Brain Research*, 91, 320-326.

Rivadulla, C., Foffani, G. & Oliviero, A. (2014). Magnetic field strenght and reproducibility of neodymium magnets useful for transcranial static magnetic field stimulation on the human cortex. *Neuromodulation*, 17, 438-442.

Rosen, A.D. (2003). Mechanism of action of moderate-intensity static magnetic fields on biological systems. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 39, 163-173.

Rosen, A.D. & Lubowsky, J. (1987). Magnetic field influence on central nervous system function. *Experimental Neurology*, 95, 679-687.

Sailer, A., Molnar, G.F., Paradiso, G., Gunraj, C.A., Lang, A.E. & Chen, R. (2003) Short and long latency afferent inhibition in Parkinson's disease. *Brain*, 126, 1883-1894.

Siebner, H.R. & Rothwell, J. (2003). Transcranial magnetic stimulation: new insights into representational cortical plasticity. *Exp Brain Res*, 148, 1-16.

Stefan, K., Kunesch, E., Cohen, L.G., Benecke, R. & Classen, J. (2000) Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain*, 123, 572-584.

Tamburin, S., Manganotti, P., Zanette, G. & Fiaschi, A. (2001). Cutaneomotor integration in human hand motor areas: somatotopic effect and interaction of afferents. *Exp Brain Res*, 141, 232-241.

Tamburin, S., Manganotti, P., Marzi, C.A., Fiaschi, A. & Zanette, G. (2002). Abnormal somatotopic arrangement of sensorimotor interactions in dystonic patients. *Brain*, 125, 2719-2730.

Tokimura, H., Di Lazzaro, V., Tokimura, Y., Oliviero, A., Profice, P., Insola, A., Mazzone, P., Tonali, P. & Rothwell, J.C. (2000). Short latency inhibition of human hand motor cortex by somatosensory input from the hand. *Journal of Physiology*, 523, 503-513.

8. Índice de figuras

Figura 1: <i>Resultados del experimento 2: efectos de la EMET y la estimulación placebo en los MEP. Tomado de Oliviero et al. (2011).</i>	11
Figura 2: <i>Estimulador magnético</i>	16
Figura 3: <i>Bobina (coil)</i>	16
Figura 4: <i>Estimulador eléctrico</i>	16
Figura 5: <i>Imán</i>	17
Figura 6: <i>Amplificador y sistema de control analógico digital</i>	17
Figura 7: <i>Ejemplo de patrón de inhibición en diferentes intervalos en uno de los sujetos de estudio; el eje y representa la amplitud de potencial. En este caso el intervalo de 21ms fue el elegido entre el pulso eléctrico y el magnético, de cara a optimizar la evaluación del IAC.</i>	19
Figura 8: <i>Esquema del procedimiento</i>	20
Figura 9: <i>Representación gráfica de las media de las amplitudes en la fase PRE en las condiciones TEST e IAC, tanto cuando la estimulación posterior fue real como cuando fue un placebo.</i>	23
Figura 10: <i>Representación gráfica de los efectos de la EMET con respecto al placebo sobre la amplitud de los potenciales TEST en la condición de intensidad fija.</i>	24

Figura 11: *Representación gráfica de los efectos de la EMET con respecto al placebo sobre la amplitud de los potenciales IAC en la condición de intensidad fija.....25*

Figura 12: *: Representación gráfica de los efectos de la EMET con respecto al placebo sobre la amplitud de los potenciales TEST en la condición de amplitud fija.....26*

Figura 13: *Representación gráfica de los efectos de la EMET con respecto al placebo sobre la amplitud de los potenciales IAC en la condición de amplitud fija.....27*

9. Índice de tablas

Tabla 1: <i>Estadísticos de muestras relacionadas. Comparamos las amplitudes de los registros electromiográficos en la fase TEST.....</i>	22
Tabla 2: <i>Interacción entre el factor condición y el factor estimulación.....</i>	22
Tabla 3: <i>Tamaño del potencial test con respecto a los factores “estimulación” y “tiempo”</i>	23
Tabla 4: <i>Tamaño del potencial IAC con respecto a los factores “estimulación” y “tiempo” en la condición de intensidad fija.....</i>	25
Tabla 5: <i>Tamaño del potencial TEST con respecto a los factores “estimulación” y “tiempo” en la condición de amplitud fija.....</i>	26
Tabla 6: <i>Tamaño del potencial IAC con respecto a los factores “estimulación” y “tiempo” en la condición de amplitud fija.....</i>	27