

D. José Luis Bardasano Rubio, Catedrático de la Universidad de Alcalá.

INFORMA

Que la Tesis Doctoral titulada “SELECCIÓN DE DISPOSITIVOS Y SU ADAPTACIÓN EN LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA TRANSCUTÁNEA”, presentada por D. José Luis Aldeanueva Aguirre, y realizada bajo mi dirección, reúne los méritos de calidad y originalidad, así como los requisitos científicos y metodológicos para optar al grado de doctor.

Alcalá de Henares, 17 de febrero de 2014

Dr. D. _____

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Luis Bardasano, responsable último de esta tesis, por haber depositado en mí su confianza, así como por su apoyo y ayuda durante los años de trabajo conjunto.

A la Dra. Carmen de Mendoza y al Dr. José Miguel Benito del departamento de enfermedades infecciosas del Hospital Carlos III por su inestimable ayuda en los aspectos metodológicos y al personal del laboratorio de Biología Molecular en la realización de las analíticas PCR.

Al Dr. José Luis Arranz y al Dr. Pedro Galindo por su incondicional apoyo desde el inicio de este trabajo, y su fundamental contribución en la consecución de estos datos.

A la Comunidad de Madrid especialmente al CAID y al Ayto.de Torrejón por permitirnos aplicar la microestimulación eléctrica en sus instalaciones. También dar las gracias a la Doctora Tatiana que hizo posible las extracciones de sangre, así por su colaboración en el reclutamiento de pacientes y sobre todo, por su compañía y sus siempre gratificantes palabras.

A la Fundación Europea de Bioelectromagnetismo, por su inestimable ayuda en el siempre complejo mundo de la instrumentación, así como por el suministro y puesta a punto del neuroestimulador.

A todos los voluntarios que participaron en el estudio, porque sin ellos esta historia nunca hubiera sido posible.

A mis compañeros, y especialmente a mis amigos de la Universidad de Alcalá de Henares, por haber sabido estar ahí en los momentos en los que no resulta fácil hacerlo. Sin su aliento nada de esto hubiera sido posible.

A José Alfonso, por los inolvidables momentos vividos juntos, algunos de los cuáles, sin duda, también forma parte de este trabajo. Gracias por formar parte del equipo.

A mi compañera Rosa, hermanos y sobrinos, por su infinita paciencia. Gracias por ser mis compañeros de viaje en esta vida.

A mi padre, por quererme tal como soy, pero en especial a mi querida madre fallecida antes de la finalización de la Tesis. (¡Sois lo mejor que tengo!)

El caso estudio presentado en esta tesis fue publicado con nº5183 “ conference proceedings book ”(ISBN 978-88-8286-231-1)en el 10th International Congress of EBFA, celebrado en la Universidad de la Sapienza en Roma.

Índice

	Pág	Fig.
i Metodología de diseño del estimulador e identificación necesidades.....		
■ Introducción		
1. Revisión histórica.....	10	1,2,3,4
2. Corriente galvánica.....	14	
2.1 Efectos.....	15	5
2.2 Equipos.....	21	
2.3 Iontoforesis.....	23	
2.4 Electrolisis.....	28	
3. Configuraciones activas de electrodo.....	29	
3.1 Tipos.....	29	6(a,b,c,d,e,f)
3.2 Configuración monopolar versus bipolar.....	32	
3.2.1 Activación celular.....	32	7
3.2.2 Parámetros generales.....	34	
3.3 Distanciamiento entre electrodos en la configuración bipolar	35	8
3.3.1 Activación celular.....	35	9
3.4 Densidad de campo eléctrico en las diferentes configuraciones	37	10,11,12,13
4. Estimuladores de voltaje constante versus corriente constante.....	41	14,15,16,17
5. Depolarización celular.....	46	
5.1 Con potencial de acción.....	46	19
5.2 Sin potencial de acción.....	48	20,21
6. Activación celular.....	49	22,23
6.1 Activación celular por aplicación de electrones.....	50	
6.2 Condiciones de contorno.....	51	24 25
■ Materiales y Métodos	52	
1. Simulación y análisis tejidos biológicos, impedancias y diagramas de cole-cole.....	52	
2. Conductividad sangre y reacomodo celular.....	58	
3. Evaluación del equipamiento disponible para nuestras necesidades...	61	26,27,28,29 30
3.1 Descripción diferentes modos de estimulación, técnica interferencial.....	61	
3.2 Estructura eléctrica generalidades (corrientes, pulsos, frecuencias, etc).....	65	31,32,33,34, 35,36,37,38
3.3 Las técnicas TENS/TEAS.....	73	39,40,41,42,
3.4 Tipos de corrientes habitualmente utilizadas en TENS.....	78	43,44
3.5 Modos de aplicación del TENS.....	79	45,46,47
4. Selección del estimulador.....	80	48
5. Estudio acondicionamiento y puesta a punto estimulador.....	84	
5.1 Bases neurofisiológicas colocación electrodos.....	84	49

5.1.1	Control miogénico.....	84	
5.1.2	Control neurógeno.....	85	
5.1.2.1	Sistema nervioso central (SNC).....	85	
5.1.2.2	Sistema nervioso entérico (SNE).....	85	
5.2	Utilización vías de propagación o de control de actividad gástrica.....	87	
5.3	Sistema de nervios craneales.....	88	
6	Estudio de los puntos de baja impedancia necesarios.....	90	50
6.1	Conducción a través de los nervios simpáticos y parasimpáticos mediante estimulación con depolarizaciones débiles.....	91	51,52,53
6.2	Estudio de los puntos electropermeables de la piel por zonas...	93	
6.2.1	Zona cabeza-cuello.....	93	54(a,b)
6.2.2	Zona extremidad(es) superior(es).....	94	
6.2.3	Zona Tronco.....	95	55
6.2.4	Zona extremidad(es) inferior(es).....	96	56
6.2.5	Circulación, barrido completo por todo el cuerpo.....	97	57
6.2.6	Patrones de circulación de señal, asignación canal – electrodo.....	98	58 59
6.2.7	Estudios de impedancias epidermicas	101	60,61,62
6.2.8	Verificación con el EEG.....	103	63,64
ii Caso Estudio			
■ Introducción.....		104	
■ Objetivos.....		106	
1.	Hipótesis y justificación del caso estudio.....	106	
1.1	Hipótesis concentraciones iónicas intracelulares y microcorrientes.....	108	65
1.2	Hipótesis control neural y microcorrientes.....	112	66
1.3	Electrotaxia celular.....	114	67
1.4	Inactivación de virus mediante corrientes eléctricas.....	116	
1.5	Reactivación virus herpes mediante estimulación eléctrica.....	117	68
1.6	Efecto de proliferación de linfocitos T mediante electroacupuntura.....	118	
■ Materiales y métodos			
1.	Sujetos.....	119	
2.	Criterios de inclusión	120	
3.	Criterios de exclusión.....	120	
4.	Criterios de retirada.....	120	
5.	Tipo de estudio.....	121	69
6.	Seguimiento de pacientes.....	121	70
7.	Control de sesgos.....	122	
8.	Descripción del tratamiento.....	122	

9. Dosis Terapéutica.....	123	
10. Áreas de aplicación.....	125	71
11. Dosificación (Programación sesiones y tratamiento).....	126	72
■ Resultados	127	73,74,75
■ Discusiones		
1. Pruebas no paramétricas.....	133	
2. Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon.....	135	
■ Conclusiones	137	
■ Referencias		

SUMARIO

El uso de la estimulación eléctrica con fines terapéuticos se encuentra ampliamente extendido al nivel mundial por su demostrada eficacia y por las ventajas que reporta, entre ellas la carencia de efectos secundarios y la sustitución de sustancias químicas medicamentosas.

Existe en el mercado una amplia diversidad de estimuladores eléctricos, capaces de aplicar al paciente estímulos eléctricos con parámetros controlados y con niveles de seguridad adecuados. Esta gama de equipos tiene un radio de acción muy amplio o universal. Debido a las posibles combinaciones de parámetros eléctricos y posicionamiento de los electrodos se consiguen aplicaciones muy específicas, como la presentada en esta Tesis.

La tesis presenta la descripción de las características del estimulador eléctrico con fines terapéuticos y su adaptación para el caso estudio aquí presentado. En este caso estudio se recurre a nuestro acondicionamiento del estimulador, para que junto con una dieta selectiva iónica y nuestras corrientes eléctricas pueda ser utilizado para reactivar los reservorios latentes del VIH-1 y entonces el tratamiento antirretroviral sea más efectivo.

La presente tesis ha sido estructurada en varios apartados empezando con los distintos aspectos que se han de tener en cuenta para el desarrollo de cualquier sistema estimulador. Para ello se describe la fisiología y funcionamiento del sistema nervioso y en particular, se describen los puntos de aplicación de los electrodos situados en puntos de baja impedancia. Así como una revisión de las diferentes técnicas de estimulación eléctricas posibles para alcanzar los reservorios.

Hemos analizado la estimulación eléctrica. Para ello mostramos primero el campo eléctrico creado por un electrodo y se analiza el comportamiento en la célula latente infectada. Se realiza un análisis de las posibles configuraciones de electrodos y se estudia los efectos de una u otra estructura sobre ella. Describiendo la técnica del barrido periférico para conseguir alcanzar los reservorios, también se presentan nuevas formas de señal que consiguen mejorar los patrones empleados hasta ahora.

El equipo elegido esta dentro de los TENS (Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation: Estimulación nerviosa eléctrica transcutánea) y fue empleado en el caso estudio presentado al final de la tesis.

SUMMARY

Electric stimulation is worldwide used for therapeutic purposes due to its demonstrated efficiency and the advantages of no side effects because no chemical substances.

There is a great diversity of electrical stimulators available in the market, providing controlled parameters and adequate levels of safety.

Each one of these simulators has a wide range of functions due to the possibility of a series of combinations of electrical parameters and the positioning of the electrodes. Very specific applications have been obtained, as it is shown on this paper.

Herewith, we describe the characteristics of electrical stimulators for therapeutic ends and its suitability to work in conjunction with a selective ionic diet in order to reactivate the latent reservoirs of HIV-1. Therefore, we recommend that these should be used simultaneously with the Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART).

To reactivate the latent reservoirs we propose our (Shock and kill) therapy which purges the latent reservoirs with electrical microcurrents and the ions selective diet, overtaking in this way the action of HAART more effectively.

The present thesis has been structured in several sections, beginning with the different aspects to be considered in the development of any stimulating systems.

Therefore, we are describing the physiology and function of the nerve system and in particular the positioning of the electrodes located in points of low impedance. Likewise, a review of the different electric stimulation techniques that make possible reaching the reservoirs is indicated herewith.

We have analyzed the electric stimulation showing firstly the electric field created by an electrode and secondly the behavior of the latent infected cell. We describe the possible configuration of the electrodes and their effects on the cell.

We have used the “Periferic sweeping” technique of electrodes array in order to reach the reservoirs, and new combinations of signal pattern improving the current circulation have been introduced.

At the end of this thesis we show a case study where we proposed the administration of the transcutaneous electrical nerve stimulator.

RESUMEN

En la presente tesis se realiza la evaluación de varios estimuladores eléctricos con el objetivo de realizar una adaptación para la reactivación de las células latentes infectadas en individuos infectados con el VIH-1, bajo la terapia antirretroviral altamente efectiva, (HAART).

Los pacientes que están infectados con el VIH-1, después de unos 20 años bajo la medicación HAART, están actualmente con niveles de ARN del VIH-1 en plasma por debajo de los límites de detección de los análisis clínicos. Esta medicación debe mantenerse durante toda la vida y si hay una interrupción en este tratamiento, se producirá un aumento súbito en la replicación del virus. Este virus se aprovecha de la larga vida de algunas células inmunitarias, interrumpiendo la transcripción genética del provirus.

Para reactivar estos reservorios latentes proponemos nuestra terapia (shock and Kill) gracias a esta, intentamos purgar los reservorios latentes junto con una dieta selectiva iónica, haciendo de esta manera la acción de la medicación HAART más efectiva.

ABSTRACT

In the present tesis we have evaluated several electrical stimulators with the purpose of its adaptation to latently infected cell reactivation in HIV-1 infected persons on HAART therapy.

The Patients with Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART), after twenty years treatment, are at present with levels of plasma HIV-1 RNA below the limits of detection of clinical essays. Current treatments must be maintained for life, with treatment interruption resulting in the rapid rebound of replicating virus. The HIV-1 exploits the long-lived cells of the immune system by transcriptional interference of the provirus.

To reactivate the latent reservoirs we propose our (Shock and kill) therapy which purges the latent reservoirs with electrical microcurrents and ions selective diet, overtaking in this way the action of HAART more effectively.

■ Introducción

Vamos a presentar una revisión histórica de los sistemas eléctricos de estimulación junto a los conceptos básicos de fisiología que se requieren para entender su funcionamiento.

1. Revisión histórica

El uso de electricidad como fuente para obtener una respuesta controlada del cuerpo humano es una práctica que data de tiempos muy antiguos. Seligman se remonta en su artículo a la época de los egipcios, para encontrar los primeros indicios de la existencia de electricidad animal. Expone cómo existen referencias pintadas de los egipcios sobre las propiedades eléctricas del denominado pez lobo que habitaba el Nilo. Varios siglos después, en la antigua Grecia el filósofo Thales de Mileto (640-546 aC) describía el efecto que observaba al frotar el ámbar y que atraía pequeños objetos. Platón y Aristóteles escriben sobre el entumecimiento y la rigidez que causa sobre las articulaciones el contacto con el pez torpedo (Seligman L J. 1982[37]). Sin embargo, el primer documento escrito en el que queda descrita la influencia terapéutica de la electricidad se debe a los romanos. En él muestran las propiedades del pez torpedo para eliminar los dolores de cabeza.

No obstante, no es hasta el siglo XVI que el filósofo inglés William Gilber estudia los efectos eléctricos y magnéticos llegando a diferenciarlos e introduce los términos de fuerza eléctrica, atracción eléctrica y polo magnético.

En 1729 el inglés Stephen Gray descubrió que las cargas eléctricas se puede transferir de un cuerpo a otro si éstos se conectan. Pero no es hasta Charles Coulomb (1736-1806) quien con su ley determina la fuerza que ejercen las cargas eléctricas. Después Michael Faraday (1791-1867) y James Clerk Maxwell fueron quienes introdujeron, con sus experimentos, la teoría sobre la electricidad y el magnetismo.

Paralelamente a los descubrimientos de la electricidad, se realizan diferentes experimentos que interactúan con el cuerpo, de esta manera en 1798 Galvani publicó un opúsculo titulado *De viribus electricitatis in motu muscularis* (Sobre la acción de la electricidad en el movimiento muscular), en el que sostenía que ‘los seres vivos eran productores de electricidad. Este utiliza un generador de corriente para forzar un movimiento. Esta primera prueba sólo demuestra que se puede interaccionar con el cuerpo a través de la electricidad.

Volta, analizando las experiencias de Galvani, intuyó la posibilidad de producir electricidad por medios químicos; en 1800, construyó la primera pila eléctrica mediante la aplicación de discos de cobre y cinc superpuestos, separados cada par con un fieltro empapado de agua acidulada. A la corriente continua así obtenida, Volta le puso el nombre de corriente galvánica, en honor a aquel investigador, pero acuñando algo en lo que Galvani no creyó: la producción química de la energía eléctrica.

De modo inmediato a los descubrimientos de Volta y Galvani comenzaron, ya durante el siglo XVIII, las aplicaciones médicas de la corriente galvánica.

Durante el siglo XIX, el descubrimiento del fenómeno de la inducción por Faraday introdujo en terapéutica el primer tipo de corrientes variables, bautizado, por su descubridor, con el nombre de corrientes farádicas.

Faraday comprobó cómo el cambio de corriente en una bobina, induce sobre otra bobina un voltaje, el cual es aplicado como estímulo eléctrico. A partir de este momento, el denominado inductorium (induction coil stimulator) se hizo muy popular puesto que era capaz de proporcionar estímulos individuales así como sucesión de estímulos de una intensidad controlable, aunque no duración. Constaba, como se puede observar en figura 1, de una bobina primaria (dispuesta con un interruptor en serie para controlar el paso de la corriente) y una secundaria. Al cerrarse el interruptor, el paso de corriente por la bobina primaria origina un campo magnético de intensidad creciente. Este cambio en el campo magnético da lugar en la bobina secundaria a la aparición de un voltaje. Una vez que el campo alcanza un valor estacionario, cesa el voltaje sobre la bobina secundaria. En el momento en el que se abre el interruptor, se observa cómo aparece en la bobina secundaria un voltaje de polaridad opuesta al inicial. El tiempo entre ambos pulsos viene determinado por el tiempo que se encuentra el interruptor cerrado.

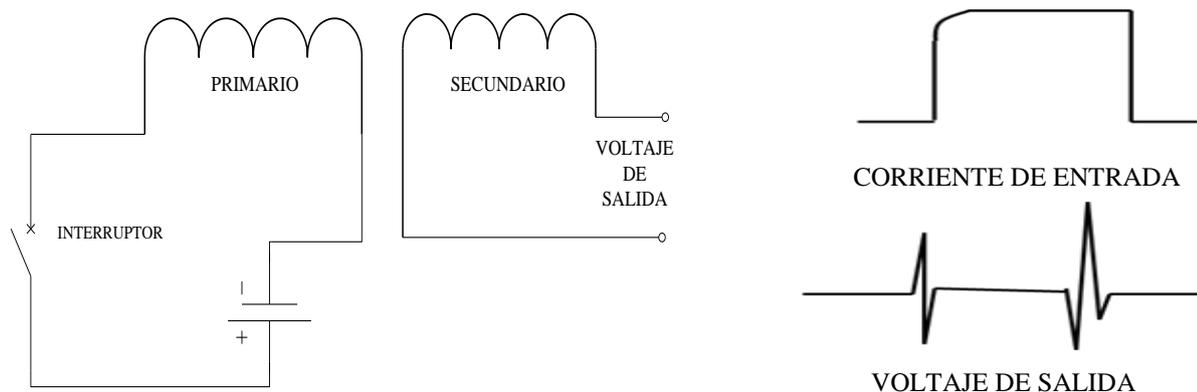


Figura 1

A la derecha (Esquema del inductorium) y a la izquierda, el cierre y apertura del interruptor origina un cambio del flujo magnético en la bobina primaria, el cual se refleja en la secundaria como unos picos de tensión, dando lugar a la señal de estimulación)

En 1844 Carlo Matteucci descubrió una solicitud voluntaria que genera una corriente eléctrica proveniente de los músculos. (Concepto de electricidad animal). Posteriormente en 1849 Du bois-Reymond observó que cuando sumergimos en solución salina las manos y brazos contraídos el galvanómetro deflectaba (La impedancia de la piel reduce la corriente) ($I=V/R$) inicio de la electromiografía. (descubrimiento del potencial de acción).

Estos primeros investigadores utilizaban como estimuladores baterías capaces de suministrar corriente eléctrica al disponerse en contacto con el tejido. Sin embargo, observaron como la estimulación se producía al comienzo del paso de la corriente.

Posteriores experimentos demostraron que es necesario un tren de pulsos para mantener la acción generada por la estimulación eléctrica. A partir de este momento todos los esfuerzos se centran en el desarrollo de interruptores capaces de permitir el control del paso de la corriente como muestran las figuras siguientes (Ingeniosos interruptores los de aquellos tiempos).

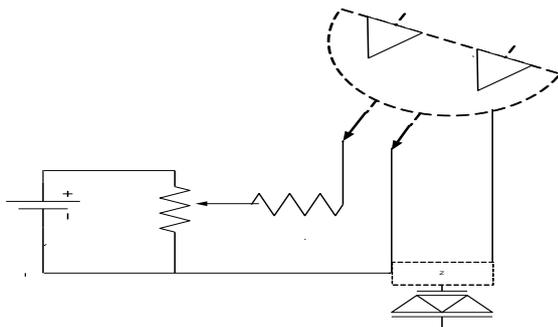


Fig.2-Estimulador de Helmholtz con manejo de interruptores con un péndulo balístico

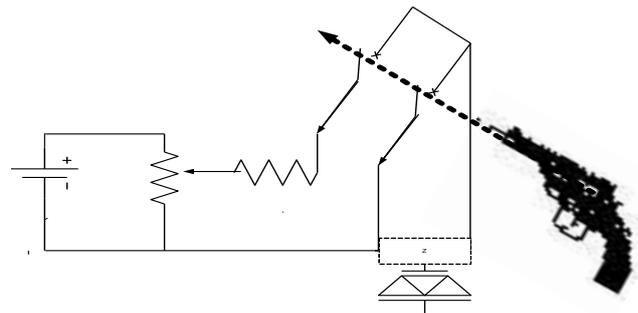


Fig.3-Estimulador de Weiss eliminación conductores con proyectil

En las figuras anteriores podemos observar como se realizaba el control en el suministro de la corriente. Primero paso de la intensidad mediante el cierre de un primer interruptor y después con la apertura de un segundo interruptor se interrumpe el suministro. Luego la duración del pulso dependía prácticamente de la distancia entre los interruptores.

En 1850 Helmholtz desarrolló (fig.2) este interruptor de péndulo balístico, el cual está constituido de una cuerda de la que se suspende un peso de acero. El movimiento del péndulo hace que se abran y se cierren los dos interruptores, de forma que un interruptor cortocircuita el electrodo (evitando el paso de la corriente), y otro interruptor está dispuesto en serie con el generador y permite el paso de corriente. Con este dispositivo, la duración del pulso de corriente se seleccionaba mediante el ajuste con un micrómetro, de la distancia entre el primer y segundo interruptor. De esta forma se obtenía fácilmente la resolución de *milisegundos*.

Años más tarde en 1890 Bernstein realizó una contribución fundamental al exponer como las membranas del nervio se polarizan y despolarizan durante el desarrollo del potencial de acción. Propuso la teoría moderna de que la fibra muscular o la nerviosa se encuentran normalmente polarizadas con la superficie exterior positiva en relación al interior y que el potencial de acción es una despolarización autopropagada de la membrana.

Posteriormente en 1900 Nernst y Goldman mediante su ecuación, demostraron que en el potencial transmembrana el gradiente eléctrico es igual y opuesto al gradiente de concentraciones, de modo que la suma algebraica de estas dos fuerzas es igual a cero. Esta ecuación permite calcular el potencial de equilibrio de los tres iones fundamentales, conociendo su concentración en el interior de la célula y en el medio extracelular .

En 1901 Weiss muestra otro ejemplo de interruptor, (fig. 3) que permite conseguir un pulso de corriente de una duración determinada. En este caso el principio que rige el control del tiempo se basa en la eliminación de los hilos de contacto mediante el disparo de un proyectil. Al disparar, el proyectil elimina primero el cortocircuito que existe en el electrodo (permitiendo el paso de la corriente) y posteriormente se interrumpe dicha corriente al eliminar el segundo contacto. Conociendo la velocidad del proyectil y la distancia entre los dos hilos se calculaba el tiempo de duración del pulso de estimulación. De esta forma su inventor aseguraba ser capaz de obtener con facilidad un estímulo del orden de los 800 *microsegundos*.

En este mismo año 1901 Erlanger, inventa el osciloscopio de rayos catódicos, gracias al cual se pudo precisar el tiempo preciso del potencial de acción, el periodo refractario, la gradación de las respuestas locales, (potenciales electrotónicos) y la naturaleza iónica de las respuestas todo-nada.

En la década de los treinta, el científico austriaco Nemeč, preocupado por determinar el factor que más influía en la sensación molesta que manifestaban los pacientes sometidos a la acción de la corriente eléctrica y que impedía utilizar altas intensidades, llegó a la conclusión de que este factor era la *frecuencia* de la corriente utilizada.

Anteriormente en 1881 D'Arsonval, experimentando con corrientes alternas senoidales, aumentando progresivamente su frecuencia, llegó a la conclusión de que la excitabilidad celular está íntimamente relacionada con la frecuencia.

Demostó, que la excitabilidad varía significativamente, según la frecuencia de la corriente utilizada. Así, entre 0 y 2.500 Hz, la excitabilidad celular aumenta de forma progresiva. Entre 2.500 Hz, permanece estacionaria. A partir de esta frecuencia, va decreciendo hasta desaparecer.

Sus ensayos fueron realizados con un estimulador cuyo sistema simplificado puede verse en la figura 4.

Podemos demostrar las observaciones de D'Arsonval, observando en la formula de la impedancia eléctrica que, a mayor frecuencia, menor impedancia de la piel.

$$Z = \frac{1}{2\pi f C}$$

siendo: f = frecuencia de la corriente.
 π = constante = 3,14.
 Z = impedancia de la piel
 C = Capacidad

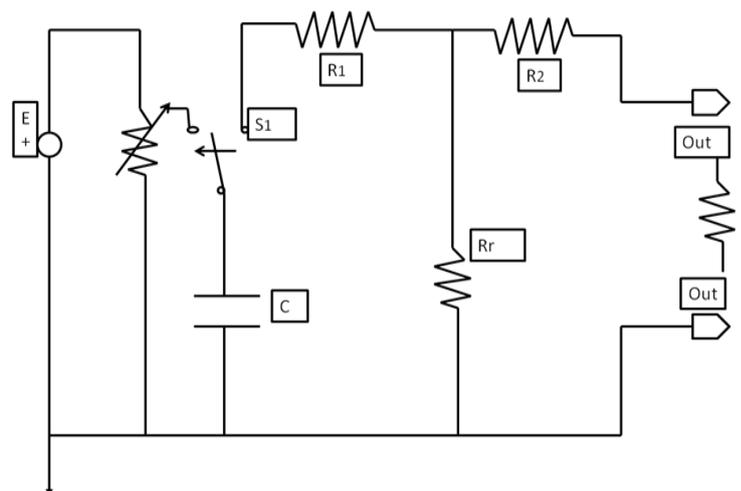


Figura 4- Estimulador capacitivo de D' Arsonval

Siendo la capacidad función de la superficie del electrodo (determinándose estadísticamente que la capacidad eléctrica de un electrodo de 100 cm² de superficie es de 1 microfaradio).

Observando en la fórmula anterior vemos que conforme aumenta la frecuencia de la corriente, la resistencia eléctrica cutánea va disminuyendo; para frecuencias medianas, es muy pequeña, prácticamente despreciable. Así, aplicando esta fórmula, tendríamos que para una corriente de frecuencia de 100 Hz, aplicada por medio de un electrodo con una superficie de 100 cm², la piel nos ofrecería una impedancia de 1.612 ohmios. En las mismas condiciones, otra corriente de 4.000Hz provocaría una impedancia de sólo 40 ohmios.

Gracias a los descubrimientos anteriores, centrándonos en el caso estudio de nuestra tesis podemos decir que, para lograr vencer la impedancia de los tejidos y poder alcanzar nuestro objetivo podríamos aplicar microcorrientes superficiales de frecuencias superiores o incrementar la intensidad, esto queda claro, ya que para sentir las mismas sensaciones al paso de la corriente con las frecuencias bajas es necesario aumentar significativamente la intensidad o amplitud (30 a 40 mA).

Si bien el empleo de frecuencias altas permite el uso de un tipo de corriente que admite altas dosificaciones, sin que por ello se produzcan molestias significativas, aunque con ellas sabemos que no se obtienen los efectos terapéuticos propios de las corrientes de baja frecuencia (frecuencias inferiores a 150 Hz).

Ya con estos primeros ensayos de estimulación se dieron cuenta que la corriente galvánica en el organismo produce determinados cambios fisiológicos, que podemos aprovechar desde el punto de vista terapéutico.

2. Corriente Galvánica

La corriente continua es aquella cuya dirección es constante. En ella, el flujo de cargas se realiza en el mismo sentido: del polo negativo al positivo para las cargas negativas, o del positivo al negativo si consideramos el flujo de cargas positivas. En las aplicaciones médicas, utilizamos un tipo de corriente que, además de continua, es ininterrumpida y de intensidad constante. A esta corriente se la denomina galvánica. En cuanto a sus características físicas, la corriente galvánica es de baja tensión (60-80 V) y baja intensidad, como máximo 200 mA. Se la denomina también constante, porque mantiene su intensidad fija durante el tiempo de aplicación.

En la aplicación de la corriente galvánica se distingue la base de cierre del circuito, en que la corriente aumenta su intensidad de modo más o menos brusco, hasta alcanzar la previamente establecida; la fase o estado, estacionaria, de intensidad constante, que constituye la auténtica corriente galvánica, y la de apertura del circuito, al final de la aplicación, en la que la intensidad de la corriente desciende a cero

Existen dos formas fundamentales de producción de corriente galvánica: mediante la utilización de pilas o baterías recargables, o mediante la rectificación de la corriente alterna de la red. Los estimuladores portátiles de corriente galvánica emplean habitualmente las pilas como fuente de alimentación, o utilizan las baterías recargables, por su economía.

En ellos, la aplicación de la corriente que sale de la fuente es directa al circuito. Si se utiliza la corriente alterna de la red, hay que proceder previamente a rectificarla. En la actualidad, se emplean rectificadores de diodos y, con más frecuencia, rectificadores de selenio.

Los generadores de corriente galvánica tienen dos terminaciones o polos: uno se denomina polo positivo y el otro polo negativo. En los aparatos utilizados en terapéutica, vienen diferenciados por colores (rojo el positivo o ánodo, y negro el negativo o cátodo).

Existe también en el estimulador un conmutador de polaridad que suele tener tres posiciones: 1ª polaridad directa, (+) la derivación roja es positiva con respecto a la negra; y 2ª(-) la derivación roja es negativa con respecto a la negra; 3ª (O) no se suministra corriente.

Por definición, el estimulador de corriente directa continua no tiene pulsos y, por consiguiente, no tiene formas de onda o parámetros de pulso. El cierre y la apertura del circuito se realizan manualmente, con un conmutador on/off . Existen aparatos más sofisticados, con microprocesadores, en los cuales pueden preestablecerse los intervalos de tiempo de interrupción, arranque y reversión de la polaridad, antes de iniciar la aplicación.

2.1 Efectos

El flujo de corriente eléctrica a través de un medio biológico conductor origina tres efectos básicos: electrotermal, electroquímico y electrofísico. Teóricamente, cada vez que la corriente fluye por el organismo se producen los tres efectos.

El efecto electrotermal es la consecuencia del movimiento de las partículas cargadas en un medio conductor produce microvibración de dichas partículas. Esta vibración y las fuerzas friccionales asociadas originan la producción de calor. A su paso por el organismo, la corriente galvánica provoca, sólo en muy pequeña proporción, la aparición de calor. La cantidad de calor producido se describe por la ley de Joule:

$$Q = 0,24 \times R \times I^2 \times t = \text{Calorías}$$

donde Q es la cantidad de calor en calorías, R es la resistencia de la zona del cuerpo atravesada, I es la intensidad de la corriente y t es el tiempo de paso de la corriente por esa zona en segundos.

Esta pequeña elevación de la temperatura, entre 2 y 3 grados especialmente debajo de los electrodos, tiene escasa aplicación práctica (ablación).

El efecto electroquímico se pone de manifiesto cuando el agua en su estado puro (destilado), no conduce la corriente eléctrica. Sin embargo, cuando se disuelven sustancias ionizables (como ácidos, bases y sales), éstas se disocian en iones. Las soluciones resultantes, llamadas electrólitos, son capaces de conducir una corriente eléctrica en virtud de la migración de los iones disociados. El fenómeno de la conducción de carga eléctrica a través de los electrólitos recibe el nombre de electrolisis, que tiene lugar si el campo eléctrico tiene siempre el mismo sentido.

Su estudio se realiza en un recipiente denominado cuba electrolítica o voltámetro, en el que se deposita el electrólitos y se introducen dos electrodos, entre los cuales se establece una diferencias de potencial eléctrico, unidireccional y constante a lo largo del tiempo (corriente galvánica). Por acción del campo eléctrico, los iones de la disolución migran hacia los electrodos. Los iones positivos lo hacen hacia el negativo o cátodo y, por ello, se denominan *cationes*. Los negativos lo hacen hacia el positivo o ánodo, por lo que se denominan *aniones*. Se produce, así, una acumulación de iones alrededor de cada electrodo formando una nube de carga eléctrica, de polaridad opuesta a la del electrodo, que tiende a neutralizar su efecto.

En el cátodo aparece siempre un metal o hidrógeno, porque la molécula del electrólito se descompone en dos partes: una constituida por el metal de la sal o de la base, o por el hidrógeno del ácido, y la otra por el resto de la molécula. Por ejemplo, el NaCl se descompone en sodio (Na^+) y (Cl^-).

Cualquiera que sea el electrólito empleado, se comprueba que los productos de la descomposición por la electrolisis, aparecen siempre en los electrodos y nunca en el propio líquido. Los iones alejados de la nube de carga experimentan una reducción del gradiente de potencial, y su migración es más lenta. Este fenómeno se conoce con el nombre de polarización del electrodo; se observa, sobre todo, con electrodos de metal inerte, como los de platino.

Los cambios químicos ocurridos durante una reacción electrolítica se rigen por las leyes cuantitativas o de Faraday.

La primera ley establece que, para una solución dada, la cantidad de material depositado (o liberado) sobre los electrodos es directamente proporcional a la cantidad total de electricidad que pasa a través de la solución electrolítica. Así pues, la cantidad de reacción química es directamente proporcional a la cantidad de electricidad que pasa a través de la solución electrolítica.

La segunda ley establece que si, por distintas cubas electrolíticas que contienen diferentes electrólitos, se hace pasar la misma cantidad de electricidad, en los electrodos se depositan cantidades de sustancia en proporción directa a sus equivalentes químicos. Por lo tanto, la cantidad de diferentes electrólitos liberados por una cantidad dada de carga eléctrica suministrada es proporcional a sus pesos equivalentes.

De este modo, es probable que la electrolisis celular afecte más a los iones calcio (245) que al sodio (135) o al potasio(145).

El comportamiento fisicoquímico del cuerpo humano, compuesto en más del 80% por agua y electrólitos, al paso de la corriente eléctrica es similar al de una disolución de cloruro sódico, iones ambos que se dan más abundantemente que cualesquiera otros en el organismo. Si una molécula neutra de ClNa se introduce en agua, se disocia en un ion Cl^- otro Na^+ : el primero, con un electrón más del que corresponde a la estructura del cloro atómico, y el segundo, con un electrón menos del correspondiente al Na atómico, pero ambos elementos adoptan esta disposición por tener así completas sus órbitas externas y encontrarse en un estado de máxima estabilidad química.

Si a un conductor electrolítico, como el que constituyen todos los líquidos intersticiales y corporales, se aplica un potencial eléctrico, se produce una disociación electrolítica: los iones con carga positiva se desplazan hacia el cátodo y los de carga negativa, hacia el ánodo. Los electrones circulan del cátodo al ánodo; el cátodo en una fuente de electrones en el interior de la disolución electrolítica, mientras que el ánodo actúa como un absorbente de electrones.

Cuando se hace pasar la corriente directa, el Cl^- se desplaza hacia el ánodo (anión) y el Na^+ hacia el cátodo (catión). Al llegar al ánodo, el Cl^- deposita su electrón de exceso y recupera su estructura electrónica normal, mientras que el Na^+ toma un electrón del cátodo, y recupera también su estructura electrónica normal.

En el ánodo, el Cl^- se convierte en cloro atómico, pero, al ser muy inestable, reacciona con el agua de los tejidos de la siguiente forma:



Así pues, en el electrodo positivo se produce liberación de ácido clorhídrico, es decir, una reacción ácida, que puede llegar a producir una quemadura ácida por coagulación de las proteínas de los tejidos. El HCl puede reaccionar con el electrodo produciendo sales (cloruros) metálicas, Por su parte, el oxígeno es capaz de reaccionar con tejidos y electrodos produciendo óxidos metálicos.

En el cátodo, el Na^+ recupera su estructura atómica y se convierte en sodio metálico que reacciona intensamente con el agua:



En el electrodo negativo, se produce liberación de hidróxido sódico, que puede provocar una quemadura por álcalis y licuefacción tisular con liberación de hidrógeno.

Por otra parte, los electrodos no sólo tienen la propiedad de atraer los iones de signo contrario: también rechazan los iones del mismo signo. Este efecto de rechazo es la base de la iontoforesis, que luego veremos: paso y transporte de iones a través de la piel por medio de una corriente galvánica.

Cuando las reacciones químicas inducidas por la corriente galvánica no son excesivas ni lesivas, la respuesta normal del organismo es aumentar el flujo sanguíneo local para restaurar el pH tisular normal. Los cambios químicos que sobrepasan la capacidad del organismo para contrarrestarlos y restablecer el estado de equilibrio originarán ampollas o incluso quemaduras químicas del tejido estimulado. Estos riesgos se minimizan disminuyendo la amplitud de la corriente, acortando el tiempo de tratamiento o invirtiendo la polaridad cada pocos segundos o minutos.

La ausencia de efectos químicos apreciables en los tejidos no indica que no se produzcan cambios electroquímicos celulares. Realmente, el origen del proceso electrolítico se encuentra en cada célula, pero los cambios son a tan pequeña escala que se observan pequeños y transitorios por lo que su significación clínica no había sido contrastada hasta hace poco tiempo.

Se ha propuesto, específicamente, que la reacción electroquímica sucede en la membrana mitocondrial entre la adenosintrifosfatasa (ATPasa) y el adenosindifosfato (ADP), lo que origina la formación de ATP.

Con esta tesis proponemos como la mitocondria juega un role fundamental en la visión global de las enfermedades, ya que de este organelo celular parten las principales reacciones del organismo.

Aparte de la producción de ATP en ella se lleva a cabo, la orden de la apoptosis celular, la producción de ROS y el estrés oxidativo. También existe la hipótesis de la síntesis de ADN por la corriente eléctrica, pero la reacción química asociada no se ha aclarado. Estos cambios celulares electroquímicos se han demostrado tanto con el uso de corriente galvánica como con corriente pulsada monofásica.

Los efectos electrofísicos, a diferencia de los electroquímicos, no ocasionan cambios en la configuración molecular de los iones. En el organismo existen moléculas cargadas eléctricamente (proteínas, lipoproteínas...), que con el paso de la corriente galvánica, pueden migrar hacia uno de los polos, sin que la corriente produzca ningún cambio en la configuración molecular. La principal consecuencia de este movimiento iónico es la excitación de nervios periféricos, donde, en presencias de una carga adecuada, el sodio y el potasio se mueven a través de la membrana celular.

Estos efectos celulares directos pueden originar muchas respuestas indirectas distintas, como contracciones de musculatura lisa o esquelética, activación de mecanismos analgésicos endógenos, respuestas vasculares y como pensamos en nuestro caso estudio, la reactivación viral.

La cataforesis consiste en partículas cargadas positivamente, que se desplazan hacia el polo negativo o cátodo (situación más habitual). La anaforesis; por su parte, son partículas cargadas negativamente, que se desplazan hacia el polo positivo o ánodo. El conjunto de cataforesis y anaforesis constituye la electroforesis.

Las acciones fisiológicas de la corriente galvánica en su aplicación terapéutica tienen dos efectos característicos, denominados efectos polares (los que se producen debajo de los electrodos) y efectos interpolares (los que se producen en el interior del organismo, en el segmento orgánico situado entre los dos polos).

Las respuestas fisiológicas directas principales derivadas de la estimulación galvánica son los cambios electroquímicos, que tienen lugar en las células y en los tejidos. Debido al flujo prolongado de la corriente galvánica, la amplitud de corriente debe ser extremadamente baja y, por consiguiente, el efecto directo va a limitarse a los tejidos superficiales (piel)

Los efectos polares o acciones ejercidas por cada electrodo de la corriente galvánica, podemos indicar los que se muestran en la tabla 1.

Las acciones polares de la corriente galvánica son de utilidad en otras aplicaciones de la electrólisis en medicina, como en la destrucción de pequeños tumores cutáneos.

El conocimiento de los efectos polares de la electrólisis tiene una gran importancia, ya que nos permite comprender las quemaduras químicas que pueden aparecer durante los tratamientos y que son su principal peligro.

<u>Ánodo (polo positivo)</u>	<u>Cátodo (polo negativo)</u>
Reacción ácida Oxidación	Reacción alcalina Reducción
Quemadura tipo ácido	Quemadura tipo alcalino
Coagulación	Licuefacción
Liberación de O ₂	Liberación de H ₂
Rechazo de iones positivos	Rechazo de iones negativos
Acción sedante	Acción excitadora

Figura 5. Efectos polares de la corriente galvánica

Los efectos interpolares son los efectos que produce la corriente galvánica en el segmento orgánico interpuesto entre los polos, base de la galvanización médica.

Los efectos interpolares más importantes de la corriente galvánica derivan del desplazamiento iónico en el interior del organismo, causa de sus acciones fisiológicas al modificar el flujo iónico a través de las membranas celulares, al actuar directamente sobre los nervios, los vasos (con un potente estímulo de la circulación de la zona), las glándulas secretoras, etc.

La acción vasomotora y trófica se observa, cuando sobre una región del cuerpo aplicamos dos electrodos embebidos en agua salada, conectados uno al polo positivo y otro al polo negativo, y se hace pasar una corriente continua durante 20 minutos con una intensidad adecuada, la cual puede ser calculada en función de la superficie de los electrodos (en condiciones normales, se soporta sin molestias de 6 a 9 mA), el paciente va a referir, en primer lugar, una sensación de pinchazos y picores en la zona de los electrodos.

La resistencia de la piel al paso de la corriente va disminuyendo gradualmente y el paciente, también de una manera gradual, tolera una mayor cantidad de electricidad; la sensación de pinchazos da paso a una sensación de agradable calor.

Cuando se retiran los electrodos, se aprecia un enrojecimiento marcado de la piel, localizado en la superficie recubierta por los electrodos. Esta coloración puede persistir de 10 minutos a media hora.

Esta hiperemia cutánea es debida al cambio del pH de la piel bajo los electrodos, lo que produce una vasodilatación refleja y aumenta indirectamente el flujo sanguíneo arterial a la piel. Una característica de la hiperemia galvánica es la facilidad para reaparecer posteriormente, de una manera intensa, ante cualquier estímulo térmico.

La hiperemia que se produce en el cátodo, generalmente, es más pronunciada y duradera que la del ánodo.

La acción vasomotora que tiene lugar en la zona interpolares condiciona un efecto trófico, al mejorar la nutrición tisular, y un efecto analgésico y antiinflamatorio, al aumentar la reabsorción de metabolitos y disminuir el edema.

El efecto sobre el sistema nervioso debajo del electrodo negativo, se produce un aumento de la excitabilidad nerviosa y una mayor rapidez de transmisión del impulso nervioso; el polo negativo tiene, por lo tanto, un efecto neuroestimulante. No obstante, a pesar de este aumento de la excitabilidad nerviosa que se produce bajo el polo negativo, respuestas excitadoras sobre el sistema neuromuscular sólo pueden provocarse si se interrumpe la corriente continua.

Si el tiempo de transmisión de la corriente galvánica es superior a 500µs. la excitación afecta solamente a las fibras nerviosas muy superficiales y generalmente es dolorosa, esta excitación nerviosa es difícil de conseguir, al igual que la discriminación entre fibras sensitivas grandes, fibras motoras y fibras que conducen el dolor.

Actualmente, debido a la necesidad de rebajar el umbral de excitación del sistema neuromuscular, la corriente galvánica solo se utiliza como terapia previa a los tratamientos con corrientes variables.

Bajo el polo positivo, la corriente galvánica tiene un efecto, sedante y analgésico, que se ha utilizado terapéuticamente. En estos casos, las corrientes variables son más efectivas y más confortables para el paciente. No obstante, debe considerarse su utilización en la actualidad, en los casos en que el dolor está provocado por estructuras muy superficiales.

Un efecto de la corriente galvánica es la galvanonarcosis, esta propiedad fue comprobada en peces, renacuajos y animales que viven en medio líquido, para verificar el sentido de acción de la corriente galvánica. En un medio líquido se hizo pasar una corriente galvánica en sentido cabeza-cola, el animal quedó inmóvil, como paralizado, de ahí su nombre. Si la corriente circula en sentido contrario, el animal se excita y se mueve, hasta colocarse en la posición anterior y permanecer en fase de narcosis.

Con respecto a las precauciones que debemos tomar, el accidente, mas habitual es la quemadura cutánea y generalmente, es ocasionado por:

Mal contacto de los electrodos con la zona que hay que tratar, lo que origina la concentración de corriente en un punto.

Galvanización de piel con heridas o erosiones sin protección. También en pieles atroficas, debido al envejecimiento o a inmovilizaciones prolongadas con yesos.

Galvanización sobre zonas de anestesia cutánea.

Galvanización en extremidades isquémicas.

Las quemaduras, normalmente, no son de importancia y se curan en poco tiempo con un tratamiento adecuado.

2.2 Equipos

Los equipos utilizados para la aplicación de la corriente galvánica deberán tener: una fuente de energía, un reóstato que permita variar su intensidad, un miliamperímetro que indique la intensidad de la corriente circulante en cada momento por el circuito y unos electrodos.

Para conectar los electrodos, los equipos suelen tener salidas con indicación de la polaridad positiva o negativa y, en ocasiones, de un inversor, de modo que se pueda invertir la polaridad del electrodo.

Es muy importante el contacto eléctrico entre la superficie de la piel del enfermo y los electrodos, estos deben permitir la fácil entrada y salida de la corriente eléctrica en el organismo, atravesando la resistencia que opone la piel. Para ello se utilizan en casi todos los estimuladores los electrodos flexibles adhesivos.

La manera más efectiva de garantizar ese contacto eléctrico para aplicar la corriente galvánica es sumergiendo la totalidad del individuo, o sólo la parte donde se van a aplicar los electrodos. El agua, como es bien sabido, disminuye enormemente la resistencia eléctrica de la piel y favorece la penetración de la corriente. Esta disposición se denomina «baños galvánicos», los cuales pueden ser totales o parciales.

Todos los estimuladores de corriente galvánica tienen que mostrar claramente la polaridad de los electrodos, si no se dispone de un polímetro de corriente fiable, existen algunos métodos para verificar con seguridad absoluta cuáles son los electrodos positivo y negativo. Hay test de burbujas, y otros como el de la fenolftaleína o el del yoduro potásico, que son de fácil realización.

Con estos test de las burbujas, si sumergimos los dos terminales de los electrodos de corriente continua en un recipiente con una disolución de cloruro sódico, veremos que en uno de ellos aparecen rápidamente numerosas burbujas gaseosas, mientras que en el otro se producen con más lentitud y en menor cantidad. Las más abundantes son de hidrógeno y dicho polo será el positivo.

También puede aplicarse el test de la fenolftaleína; se toma papel de filtro, que se empapa con solución diluida de fenolftaleína, incolora, y se aplican los dos terminales del aparato. La solución virará al rojo en el polo negativo, al producirse allí una reacción de carácter básico. Finalmente, el test del yoduro potásico consiste en que, si se empapa un papel de filtro con solución de yoduro potásico azul oscuro en el polo positivo, debido a que el yodo en él liberado reacciona con el almidón del papel.

Los electrodos se seleccionarán por su tamaño y forma (cuadrados, rectangulares, circulares), según la zona que hay que tratar. El espesor oscila entre 0,4 y 1 mm. La zona que queremos alcanzar con la corriente tiene que estar comprendida entre ambos electrodos. Según la situación de los electrodos, podremos realizar:

Galvanización longitudinal, la corriente recorre la región de distal a proximal, o viceversa.
Galvanización transversal, la corriente atraviesa transversalmente la zona, es decir, de delante hacia atrás o de dentro hacia fuera.

Los dos electrodos pueden ser de igual o diferente tamaño. Suele haber un electrodo pequeño excitador (cátodo) y otro electrodo indiferente, más grande, que disipa la corriente. Cuando deseemos obtener los efectos polares de la corriente galvánica, utilizaremos un electrodo activo de menor tamaño y otro de mayor tamaño indiferente, que cierre el circuito.

Si lo que deseamos es obtener los efectos interpolares (galvanización), utilizaremos electrodos del mismo tamaño.

Los electrodos han de fijarse de tal modo que queden bien sujetos a la zona que hay que tratar y perfectamente adaptados al contorno corporal. De este modo evitamos que se produzcan picos térmicos, que podrían provocar quemaduras. Por eso es necesario utilizar electrodos adhesivos.

La dosificación viene condicionada por, el tamaño de los electrodos, la intensidad de la corriente, el tiempo de aplicación y la tolerancia individual del paciente.

El tamaño de los electrodos, a su vez, depende del tamaño de la zona que hay que tratar. A mayor tamaño de electrodos, mayor intensidad, y viceversa. La intensidad de la corriente para electrodos pequeños oscila entre 1 y 5 mA/cm² y para electrodos grandes oscila entre 1 y 15 mA/cm². Se aconseja no sobrepasar los 12 mA. Si necesitamos un efecto más intenso, es preferible prolongar el tiempo de aplicación. La intensidad irá subiendo de forma lenta. El tiempo de aplicación es de 10-15 minutos y, si es bien tolerada, puede llegarse hasta 30 - 40 minutos. Habitualmente se realizan unas 15 sesiones, aunque pueden ampliarse. Una vez se concluye la aplicación, ha de disminuirse la intensidad lentamente. Se apaga el aparato y se retiran los electrodos.

La técnica de aplicación más empleada es la aplicación directa en la que los electrodos se aplican sobre la superficie corporal. Aunque también se emplea la indirecta que es aplicada mediante cubetas o electrodo húmedo. Cuando se utiliza el agua como electrodo, se aplica por medio de baños totales o parciales. El tamaño del electrodo es igual a la superficie de piel que contacta con el agua.

El baño total es el llamado baño galvánico, en el que se introduce al paciente en una bañera que lleva incorporados numerosos electrodos. Estos permiten escoger la zona de paso de corriente a través del cuerpo o hacer un tratamiento general. Al utilizar agua, podemos alcanzar dosificaciones más altas (15-20 mA).

En el baño parcial se utilizan cubetas de material no conductor, con tamaño y forma variables, adecuados al miembro que hay que tratar. Se llena de agua caliente (32-36 °C) la cubeta en la cual el paciente introduce la zona que hay que tratar. Se disuelve una pequeña cantidad de cloruro sódico para mejorar la conductividad. Situamos un electrodo en el interior de la cubeta, que se coloca detrás de una tablilla de madera agujereada, con el fin de que pase la corriente y al mismo tiempo proteger al paciente.

2.3 Iontoforesis

Esta consiste en la introducción en la epidermis y mucosas de iones fisiológicamente activos, aplicados tópicamente, mediante la corriente galvánica.

Actualmente existen aparatos diseñados específicamente para la aplicación exclusiva de iontoforesis. El tratamiento no es la corriente directa, sino los iones introducidos. Existe una larga lista de iones disponibles para su aplicación en un amplio espectro de situaciones patológicas.

Diversos experimentos han sido decisivos en el conocimiento y el uso de la iontoforesis. Es clásico el de Chatzky, que muestra la emigración de iones yoduro a través de los tejidos vegetales. Se toma una patata y se realiza una cavidad, que se rellena con yoduro potásico.

Se insertan en ella dos electrodos: uno se conecta al polo positivo de la corriente galvánica y otro, al negativo. Al poco tiempo de cerrado el circuito, se aprecia la aparición de un color azul oscuro en tomo al terminal positivo. La explicación es que a partir de la cavidad, los aniones I^- han emigrado al polo positivo, mientras que los cationes K^+ lo han hecho al polo negativo. Pero mientras que la llegada de éstos al cátodo no determina ninguna reacción coloreada especial, la llegada de I^- al ánodo y su conversión en I_2 no ionizado motivan su reacción con el almidón de la patata y la aparición de un color azulado, característico de esta reacción. Así se comprueba que es posible la emigración de algunos iones a través de los tejidos vegetales.

Otra experiencia muestra el paso de iones a través de tejidos animales. En la experiencia de Labatut, se coloca en el centro de un recipiente rectangular una masa grande de carne, que ajuste perfectamente por dos de sus lados, de modo que queden en el recipiente dos cavidades, anterior y posterior, no comunicadas entre si; éstas se rellenan con una solución de cloruro de litio al 5%. En cada una de ellas se introduce uno de los electrodos de la corriente galvánica y se deja pasar la corriente durante algún tiempo. Se extrae la carne del recipiente, se divide en secciones paralelas a las cavidades y se dosifica el litio que ha quedado en la solución, así como el existente en las secciones de carne.

De este modo puede comprobarse que el 60 % del litio ha pasado a la carne, pero no de forma uniforme: la mayoría se encuentra en la sección adjunta al recipiente que tenía el electrodo positivo; algo permanece en la segunda capa adyacente a esta primera, y nada se encuentra en las restantes capas, ni siquiera en la inmediata al recipiente donde está conectado el polo negativo. Así se demuestra que el único mecanismo de penetración del litio en la masa de carne se debe al rechazo de iones del mismo signo por parte de la corriente eléctrica, porque, de haber intervenido otro mecanismo físico, se habría apreciado el efecto, en alguna medida, en la parte de carne que está adjunta al recipiente donde se introduce el cátodo.

Si la experiencia de Labatut muestra cómo los iones también pueden penetrar en los tejidos animales, la experiencia de Leduc define cómo se hacen penetrar iones en los animales vivos por medio de la corriente eléctrica. Para ello, y en un circuito de corriente continua, se colocan en serie dos conejos, A y B, con los electrodos impregnados de las soluciones indicadas: para el conejo A, cloruro sódico en el ánodo y sulfato de estriquina en el cátodo; para el conejo B, cianuro potásico en el ánodo y cloruro sódico en el cátodo. Tanto la estriquina como el cianuro son venenos potentes, que producen la muerte con cuadros típicos y diferenciados uno del otro.

Pues bien, si cerramos el circuito, podemos comprobar que ambos venenos no ejercen su acción sobre los conejos, porque los iones que penetran en los conejos son, en el A, ion sodio a partir de ánodo e ion sulfato a partir del cátodo y, en el B, ion potasio a partir del ánodo e ion cloro a partir del cátodo. Sin embargo, basta invertir la polaridad de la corriente para que ambos conejos mueran de forma típica debido a la intoxicación estriquinica, el primero, y de la debida a la intoxicación por cianuro, el segundo, ya que, a causa del cambio de polaridad, ambos iones han penetrado ahora en los animales: el estriquinico, a partir del ánodo, en el primer conejo; el cianuro, a partir del cátodo, en el segundo conejo.

Estas experiencias demostraron, de forma dramática, la capacidad de introducir iones en seres vivos por la corriente eléctrica, en cantidad suficiente para producir efectos patológicos y, también, por tanto, para conseguir efectos terapéuticos con la introducción de medicamentos.

Con el nombre de iontoforesis se conoce la propiedad de la corriente galvánica de introducir en el organismo iones colocados en el electrodo de su misma polaridad. Al contrario que en la electrólisis, donde cada electrodo atrae los iones de signo contrario, la iontoforesis se basa en la migración o transferencia iónica provocada por la corriente continua, que hace que los iones del electrodo de igual signo se repelan y migren hacia el electrodo de signo opuesto.

Así, los iones cargados con valencia positiva o negativa son repelidos dentro de la piel por una carga idéntica del electrodo colocado sobre la piel. La selección de la polaridad correcta del electrodo activo será, por lo tanto, muy importante.

La corriente de elección para la transferencia iónica es la corriente galvánica (continua, unidireccional), obtenida a partir de generadores de bajo voltaje o de baterías. Con este tipo de corriente se asegura la máxima transferencia de iones por unidad de superficie. La posibilidad de transferencia iónica con otro tipo de corriente no es posible.

Sobre los iones de una solución electrolítica actúa una fuerza electromotriz movilizándolo el ion a través de la superficie corporal. Esta fuerza depende de la fuerza del campo eléctrico y de la impedancia o resistencia de los tejidos al flujo de la corriente. Los tejidos corporales, especialmente la piel y mucosas, tienen una tolerancia limitada al paso de la corriente, esta resistencia de la piel al flujo de corriente puede compensarse con una adecuada densidad de corriente. Aunque los efectos electroquímicos raramente alcanzan más allá de 1 mm de la superficie del electrodo, los efectos químicos de los iones introducidos tienen un efecto más profundo por la acción de los capilares y por la conductancia de los diferentes tejidos.

Los efectos fisiológicos de la transferencia iónica dependen del ion seleccionado para el tratamiento. La efectividad del ion específico dependerá: del número de iones transferidos, de la profundidad de penetración, de la combinación química de los iones con otras moléculas en la piel y del paso de los iones a los capilares y, por lo tanto, al torrente circulatorio, donde tendrá un efecto sistémico.

Los iones atraviesan la piel penetrando a través de los orificios de las glándulas sudoríparas, sebáceas y folículos pilosos, que por lo general son áreas corporales de menor impedancia. Aunque luego en esta tesis estudiaremos más profundamente los puntos de baja impedancia de la piel.

La penetración es, generalmente, menor de 1 mm; la absorción más profunda se produce mediante la circulación capilar y el transporte transmembrana. Una vez traspasada la epidermis, los iones depositados se localizan en el lugar del electrodo activo, donde se almacenan como componentes solubles o insolubles y actúan localmente. La mayoría de los iones difunden a la dermis, para posteriormente penetrar en los capilares y llegar al torrente sanguíneo, desde donde se extienden al resto del organismo, en concentraciones generalmente muy pequeñas.

Mediante iontoforesis, es difícil determinar la cantidad exacta de fármaco introducido. No obstante, el número de iones transferidos es directamente proporcional a la densidad de corriente, a la duración del paso de corriente y a la concentración de iones en la solución. Así pues, el número de iones transferidos es proporcional a la raíz cúbica del producto de la densidad de corriente y la duración del paso de corriente o tiempo de aplicación.

Por consiguiente, cuanto más tiempo se aplica una corriente, mayor es el número de iones transferidos. Así, una intensidad de 10 mA durante 1 minuto transferirá la misma cantidad de iones que 1 mA durante 10 minutos.

En cuanto a la concentración de iones, diversos experimentos han demostrado que las concentraciones mayores del 1-2 % no son más efectivas que las concentraciones menores. La densidad de corriente puede incrementarse aumentando la intensidad de la corriente o disminuyendo el tamaño del electrodo.

Ha de tenerse en cuenta que, para aplicaciones de iontoforesis, la piel normal no tolera densidades de corriente superiores a 1 mA/cm² y que, conforme aumenta la duración de la aplicación, la impedancia de la piel disminuye, lo que incrementa el riesgo de producción de quemaduras químicas por debajo de los electrodos. Es preciso tener en cuenta, además, que la impedancia de la piel es incluso más baja en áreas donde esté lacerada o con cicatrices, y en individuos de piel clara.

Las reacciones electroquímicas bajo los electrodos pueden disminuirse reduciendo la densidad de corriente bajo el cátodo. Esto se consigue aumentando el tamaño de los electrodos o disminuyendo la amplitud de la corriente.

Tenemos que tener la precaución de no utilizar dos sustancias bajo el mismo electrodo, aunque sean de la misma polaridad. La repulsión mutua puede disminuir la penetración.

Para realizar los tratamientos con iontoforesis, se precisa un generador de corriente continua, con tensiones comprendidas entre 100 y 150 voltios e intensidad no inferior a los 10 mA. Los polos han de estar claramente diferenciados por el color y, en caso de duda, se comprobará la polaridad con los test vistos anteriormente en la corriente galvánica.

Denominamos electrodo activo al que introduce el medicamento e indiferente, al otro. El medicamento se colocará siempre debajo del electrodo activo. El tamaño del electrodo ha de estar adaptado al tamaño de la superficie que hay que tratar. Es de gran importancia aumentar el tamaño del electrodo negativo ya que la reacción alcalina que tiene lugar bajo el cátodo (formación de hidróxido sódico, alta concentración de iones H) es mucho más cáustica para la piel que la reacción ácida que tiene lugar en el ánodo.

Para minimizar la posibilidad de destrucción tisular y evitar irritación y posibles quemaduras bajo el cátodo, debe disminuirse la densidad de corriente (A/cm²) en el electrodo negativo. Esto puede hacerse aumentando el tamaño del electrodo negativo, incluso si éste es el electrodo activo.

Aumentando la superficie de área del cátodo, disminuimos la densidad de corriente debajo del cátodo y consiguientemente, la magnitud de la reacción alcalina en el tejido corporal.

Una regla práctica para seguir en iontoforesis es que la superficie del cátodo sea al menos dos veces la del ánodo. Esta relación debería seguirse no sólo cuando el cátodo sea el electrodo «activo», sino también cuando actúe de electrodo inactivo.

Otro aspecto que hay que tener en cuenta es el efecto anestésico de la corriente galvánica sobre la piel subyacente a los electrodos. Debido a este efecto, es probable que el paciente no note el desarrollo de una quemadura eléctrica hasta después de concluir el tratamiento.

Los pacientes no deben permanecer con su cuerpo encima del electrodo. Esto origina una isquemia de la zona, que puede provocar quemaduras, puesto que el efecto refrigerante del flujo circulatorio desaparece.

El hombro, mano, cara, cuello, codo, rodilla, pierna, tobillo y pie se tratan mejor con el paciente sentado. el decúbito prono, supino y lateral son adecuados para tratamientos en el tronco, espalda, muslos, tórax anterior y abdomen.

Una vez el paciente ha adoptado la posición adecuada, con los electrodos colocados, se colocará el selector de polaridad (la misma polaridad que la del ion introducido). Iniciaremos el tratamiento con intensidades bajas, que iremos subiendo progresivamente, sin sobrepasar una densidad de corriente de $0,5 \text{ mA/cm}^2$ en el electrodo activo. El paciente debe sentir un ligero hormigueo, pero no una sensación quemante. Si el paciente está incómodo, hay que reducir la intensidad. Generalmente son suficientes 15-20 minutos de tratamiento a 5 mA. Si es necesario reducir la intensidad a 2-3 mA, se prolongará el tratamiento 5-10 minutos más, a menos que exista irritación de la piel que justifique acortar el tiempo de tratamiento.

Si en cualquier momento se produce irritación de la piel o sensación de quemazón, se apagará el generador lentamente y se observará la piel (tanto el encendido como el apagado del generador debe hacerse lentamente, para evitar contracción muscular no deseada, por el fenómeno de interrupción automática del flujo de corriente).

Uno de los principales riesgos de las aplicaciones electroterapéuticas, incluida la iontoforesis, son las quemaduras. La mayoría de las veces se originan por uso inadecuado.

Quemaduras químicas: la causa es la formación excesiva de hidróxido sódico en el cátodo. El hidróxido sódico produce una esclerosis del tejido, que tarda mucho en cicatrizar. Por lo general, inmediatamente después del tratamiento aparece una lesión de color rosado. Las quemaduras debajo del ánodo son raras, debido a que la polaridad positiva produce un efecto esclerótico y endurece la piel, se caracteriza por un área roja. Debe tratarse del mismo modo que una quemadura química. Puede estar relacionada con intensidades altas de corriente o, más probablemente, con densidades de corriente elevadas.

Quemaduras térmicas: el aumento excesivo de calor, en áreas donde las resistencias son elevadas, producirá quemaduras, al igual que otra forma de calor. La resistencia alta se produce alrededor de hiperpigmentaciones o pecas y zonas de esclerosis. Sin embargo, las quemaduras debidas a resistencias altas se producen, cuando las arrugas evitan el buen contacto de la piel con los electrodos o cuando un electrodo rígido no se adapta convenientemente a la superficie anatómica y deja espacios aéreos entre la piel y la superficie del electrodo. Como hemos comentado otra fuente posible de quemaduras térmicas es el resultado de una isquemia provocada por el peso del paciente sobre el electrodo, lo que impide el aporte sanguíneo al área.

2.4 Electrolisis

Dentro de la terapéutica, se designa con la palabra electrólisis o electrocoagulación la destrucción de los tejidos por medio de la corriente galvánica. La electrólisis no es más que la aplicación particular de las propiedades polares de la corriente galvánica.

Se basa, igualmente, en los efectos polares de esta corriente y busca un efecto destructivo de los tejidos, mediante la producción de una quemadura química. (Recordamos que el polo positivo tiene una reacción ácida con posible producción de quemadura y coagulación, mientras que el negativo tiene una reacción alcalina con producción también de quemadura y licuefacción; veremos que podemos elegir la forma de destrucción de tejidos que deseemos, según apliquemos a la lesión el electrodo positivo o el negativo.)

Otra ventaja de la electrolisis es que su efecto definitivo depende de la cantidad de electricidad aplicada. Esta cantidad es igual al producto de la intensidad por el tiempo, lo cual nos permite conseguir el mismo efecto aplicando intensidades pequeñas durante un tiempo algo más largo que el que se precificaría con intensidades mayores, pero, en cambio, sin producir ninguna molestia al enfermo.

En la práctica, se coloca al enfermo en una posición confortable y se le aplica el electrodo activo, que suele ser el negativo (porque el desprendimiento de burbujas de hidrógeno ayuda al despegamiento del electrodo de la masa destruida), sobre la zona que hay que tratar. El otro electrodo se coloca en su inmediata vecindad. El electrodo activo, conectado al polo negativo, tiene la forma de una aguja que se implanta en la lesión, y se hace pasar una corriente de aproximadamente 1 mA durante 1 o 2 segundos, hasta que a su alrededor se aprecia la destrucción tisular. En este momento se cambia de posición, para actuar sobre otra zona cercana, y así sucesivamente, hasta destruir la totalidad de la masa patológica. El electrodo indiferente se sitúa en otro punto del organismo.

Durante la aplicación, si el polo negativo está conectado a la aguja, la piel en contacto con ella adquiere una coloración blanca grisácea, con aparición de espuma. En los días siguientes, aparece una escara blancuzca, blanda, no retráctil, que se desprende al cabo de algunos días sin dejar cicatriz.

Un caso particular de electrólisis lo constituye la llamada depilación eléctrica. Con ella se elimina el pelo mediante la producción de hidróxido sódico, destruyendo el bulbo piloso.

La estimulación eléctrica puede ser por tensión o corriente. En el caso de sistemas transcutáneos el tipo de estimulación no es muy importante pero en el caso de los sistemas implantables, el hecho de tener el electrodo en el interior durante un tiempo prolongado y en contacto permanente con el cuerpo hace que se deba considerar la característica de carga neutra, o sea que el pulso no tenga una componente DC de la carga inyectada y que la carga resultante sea nula; en caso contrario se podría producir una interacción con el electrodo que produciría reacciones electroquímicas irreversibles como las que hemos visto anteriormente sobre las corrientes galvánicas y con cierto grado de toxicidad. Más tarde plantaremos la estimulación por corriente como muy interesante, ya que es más fácil controlar la carga inyectada.

3 Configuraciones activas de electrodo.

3.1 Tipos

Dependiendo del electrodo utilizado se puede distinguir diferentes tipos de estimulación:

Monopolar catódica: En ésta, el único electrodo físico es el cátodo mientras que el ánodo es virtual y es la referencia que dispone el estimulador. Esto se ve en la fig. 6 (a) con las líneas de fuerza del campo eléctrico adentrándose en un nervio, obteniéndose la hiperpolarización y la depolarización.

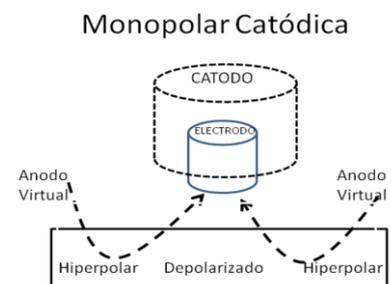


Figura 6 (a)- monopolar catódica

Monopolar anódica: De igual manera que la anterior se puede obtener una estimulación por ánodo fig. 6(b) y se tendrá el cátodo virtual, en este caso la corriente necesaria suele ser mucho mayor.

De estas configuraciones monopolares podemos representar las líneas de fuerza del campo eléctrico que son radiadas desde el electrodo negativo (cátodo) y el electrodo positivo (ánodo).

En la fig. 6 (c) hemos representado las líneas de fuerza saliendo del cátodo, si se tratará de un electrodo implantado en vez de superficial, la caja de metal donde se encuentra encapsulado todo el estimulador sería en su totalidad el electrodo negativo. En este caso las líneas de fuerza se radiarían hacia fuera en todas las direcciones.

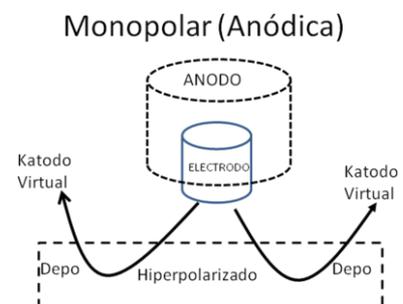


Figura 6 (b)- monopolar anódica

La intensidad de esta fuerza eléctrica que hemos representado puede entenderse como el número de líneas del campo eléctrico, que pasan a través de un volumen específico del espacio, que hemos representado por unos rectángulos que se asemejan a unas cajas que encierran un volumen que engloba estas líneas. A medida que esta caja se aleja del electrodo, las líneas de campo que van cogiendo estas cajas van siendo menor, lo que implica que el campo eléctrico se va reduciendo.

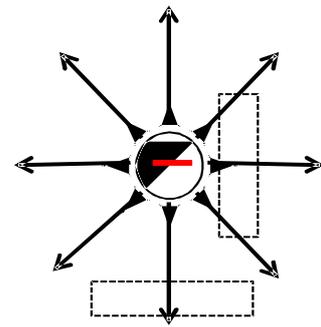


Figura 6 (c)
Líneas de fuerza del campo eléctrico
(monopolar implantable)

La configuración bipolar fig. 6 (d) permite definir los puntos de estimulación en una zona concreta y mayoritariamente la corriente de estimulación es debida al anodo y al catodo, mientras que se minimiza los efectos de los terminales virtuales (anodo y catodo virtual), porque el camino tiene una impedancia mayor que el camino directo.

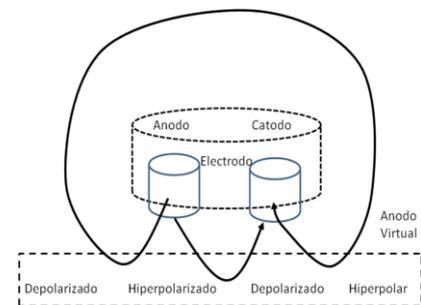


Figura 6 (d)- Configuración Bipolar

En esta configuración tripolar que podemos ver en la fig. 6 (e), la corriente se localiza en el interior del electrodo y por tanto carece de (anodo y catodo virtual) con lo que disminuye el efecto de estimulaciones no deseadas como son las que son debidas a anodos y catodos virtuales, con lo que disminuye el efecto de estimulaciones no deseadas.

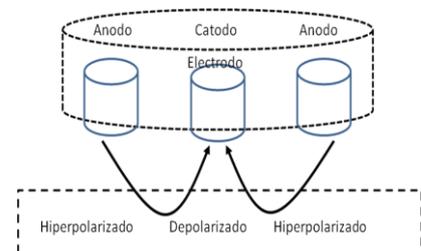


Figura 6 (e)- Configuración Tripolar

Podemos también representar las líneas de fuerza eléctrica que son radiadas entre el electrodo negativo y el electrodo positivo.

En la configuración bipolar podemos también representar al igual que en la configuración monopolar la cantidad de líneas del campo eléctrico, que pasan a través de una caja tridimensional que representamos en la fig. 6 (f).

Aunque esta configuración es mucho más difícil de analizar que la configuración monopolar, en esta figura se aprecia que, cuando las cargas están más separadas, hay más cantidad de líneas de fuerza que quedan englobadas por esta supuesta caja representada. Por lo que podemos asegurar que en esta configuración, se aumentará la intensidad de campo eléctrico a medida que aumenta la distancia de la línea que conecta el electrodo positivo y el negativo.

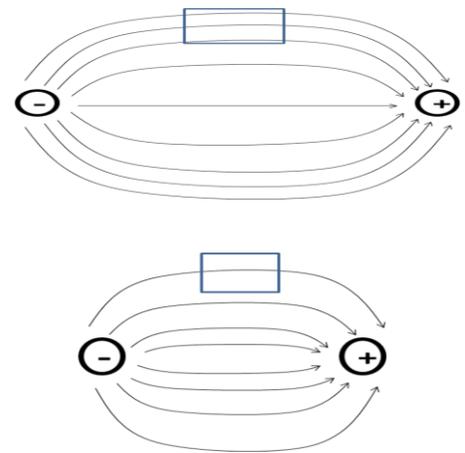


Figura 6 (f)-líneas de fuerza del campo eléctrico (bipolar)

Luego en la configuración bipolar la intensidad de los campos eléctricos a una distancia dada desde el electrodo negativo será menor cuando el electrodo negativo y positivo están próximos (bipolar estrecha) que cuando están separados (bipolar ancha).

Para un mismo (voltaje o corriente) la intensidad de estimulación con la bipolar estrecha es menor que con la bipolar ancha.

Sabemos que la carga eléctrica generada por un estimulador se disipa con la distancia a partir del electrodo. La carga eléctrica es más grande cerca del punto de contacto con el electrodo activo.

El esparcimiento de la carga eléctrica tendrá una extensión espacial que será directamente proporcional a la intensidad de estimulación o a la combinación de voltaje / impedancia. Por lo tanto la carga eléctrica por unidad de volumen de tejido disminuye a medida que la distancia desde el electrodo aumenta.

La carga por unidad de volumen es la densidad de carga eléctrica, esta es un factor crítico en la determinación de la respuesta celular a la estimulación y su seguridad y estará también afectada en gran manera por la configuración de los electrodos activos.

En la configuración monopolar o unipolar la distancia entre el electrodo positivo y el negativo es considerada infinito, ya que en un estimulador implantable la carcasa metálica que envuelve el estimulador suele ser el electrodo positivo y por lo tanto el flujo de carga eléctrica sale en todas direcciones desde el cátodo porque el ánodo es considerado que está a una distancia infinita. Para esta configuración monopolar la intensidad de campo eléctrico caerá proporcionalmente con la distancia al electrodo (si doblamos la distancia reduciremos la intensidad a la mitad). Pero el campo eléctrico será más largo con esta configuración monopolar que frente a las otras.

La configuración multipolar tiene un electrodo positivo y otro positivo los cuales están relativamente cercanos el uno del otro. Esta distancia afectará también a la intensidad de campo eléctrico. La intensidad aumentará con el cuadrado de la distancia entre los electrodos. Como hemos visto en el apartado anterior el campo eléctrico será más largo en el monopolar, luego en el bipolar y luego en el tripolar.

Como hemos visto anteriormente en la (fig. 6f), la intensidad de campo eléctrico en la configuración bipolar ancha (más distantes los electrodos) será mayor que si la comparamos con la bipolar estrecha (electrodos más cercanos). Por lo que los electrodos con gran espaciado tendrán mayor intensidad de campo eléctrico.

3.2- Configuración monopolar versus bipolar

3.2.1 Activación celular

¿Cuántas células pueden ser estimuladas con el necesario potencial?

Para responder a esta pregunta, primero tenemos que elegir entre un estimulador por corriente o por (voltaje / impedancia).

Si asumimos una impedancia constante y aumentamos *la intensidad o el voltaje* podremos estimular con el potencial suficiente en más células, basándonos en el aumento de la extensión espacial de la intensidad de campo eléctrico.

Para cada diferentes tamaño de célula tendremos diferentes umbrales de voltajes transmembrana (thresholds). Por lo que las células con un diámetro más largo serán estimuladas a menores voltajes o corrientes y progresivamente las células más pequeñas necesitarán voltajes o corrientes mayores.

El ancho de pulso (pulse width) puede usarse para controlar que células serán excitadas, las células con diámetros grandes pueden ser más fácilmente excitadas por anchos de pulso cortos y las células de diámetro más pequeño requerirán anchos de pulso mayores.

Poniendo todo lo anterior en un ejemplo, (fig.7) podemos ver como los parámetros de estimulación y la configuración del electrodo pueden ser usados para controlar la extensión espacial y el nº de células excitadas con un pulso eléctrico.

En el caso de la figura7(a) observamos los campos de densidad de corriente eléctrica para la configuración monopolar, alcanzando la excitación solamente las células más grandes.

En el caso 7(b) también configuración monopolar vemos como somos capaces de excitar más células a medida que aumentamos la intensidad o el voltaje, aunque este aumento puede ser demasiado, pudiendo alcanzar células que no necesitamos excitar con una posible causa de efectos secundarios.

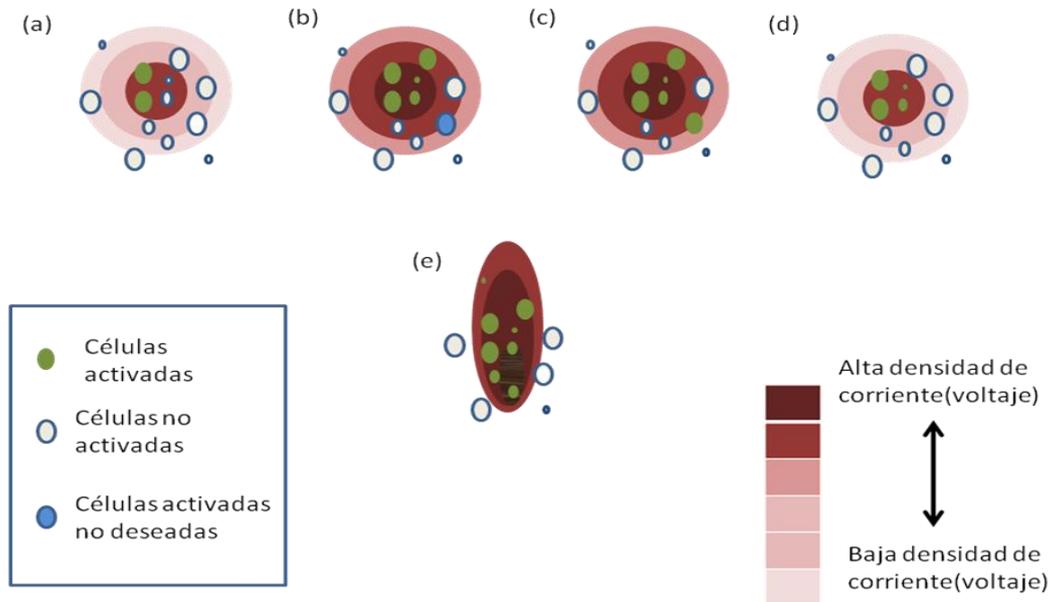


Figura 7 - Alcance activación celular

En la figura 7(c) también monopolar observamos que como alternativa al caso anterior con la misma cantidad de densidad de corriente pero moviendo hacia fuera el electrodo negativo, corregimos los efectos no deseados del caso anterior.

En el caso 7(d) queda de manifiesto como utilizando la misma configuración monopolar con la misma intensidad o voltaje que en el caso primero 7(a), pero usando un pulso con un ancho de pulso (pulse width) más largo, seremos capaces de aumentar el número de células activadas, excitando principalmente las que tengan diámetros más pequeños. Luego la intensidad requerida para excitar una célula decrece a medida que la anchura del pulso aumenta.

Por último en el caso 7(e) Con una configuración bipolar logramos mover el campo de densidad de corriente, siendo posible dirigirlo a nuestro objetivo y consiguientemente alejarlo de los efectos no deseados.

En la configuración monopolar en estimuladores implantables hay un solo electrodo que es el electrodo negativo ó cátodo, mientras la carcasa del estimulador actúa como electrodo positivo. Esta configuración generará un campo eléctrico menos intenso pero más largo y activará menos células que la configuración bipolares. En la configuración bipolar será mucho más intensa pero alcanzará menos.

En los estimuladores tenemos que poder controlar la intensidad y su extensión espacial. La configuración monopolar tendrá un campo eléctrico menos intenso pero más largo. La configuración bipolar podrá activar en estimuladores funcionales muchos más elementos neuronales, ya que su campo eléctrico es mucho más intenso, pero de menor extensión.

3.2 .2 Parámetros generales

Otro parámetro fundamental, que comentaremos más tarde es la frecuencia, tenemos que escoger esta en un rango pequeño, alrededor del cual se halla mostrado efectiva para nuestra aplicación y ejercitar con diferentes frecuencias alrededor de esta.

Gracias a estas configuraciones en estimuladores implantados podemos tener una resolución espacial en mm y una resolución temporal en msg.

El hecho de que la carga eléctrica aumenta con la distancia entre el anodo y el cátodo, es muy significativo para la elección del electrodo y sus espaciados.

Para maximizar la intensidad del campo eléctrico y asegurar su eficacia, tendríamos que posicionar los electrodos bastante separados. Pero en la otra mano tenemos que un espaciado tan grande entre los electrodos hace muy difícil el ajuste de la distribución del campo eléctrico a lo largo del eje en que estén situados los electrodos.

Este ajuste es muy importante para minimizar el alcance de la intensidad de campo eléctrico a las células que no queremos activar.

Hemos visto lo importante que resulta la configuración de electrodos activos, ya que las formas de sus campos eléctricos son diferentes como nos indicas las ecuaciones siguientes:

La configuración unipolar es inversamente proporcional a la distancia desde el electrodo negativo.

$$\boxed{1/r}$$

La configuración bipolar es inversamente proporcional al cuadrado de las distancia que separa los electrodos e directamente proporcional al cuadrado de la distancia desde la línea que une los electrodos.

$$\boxed{d^2/r^2}$$

En la siguiente figura (fig.8) mostramos un ejemplo hipotético de las intensidades de los campos eléctricos en función de distancia desde el electrodo negativo.

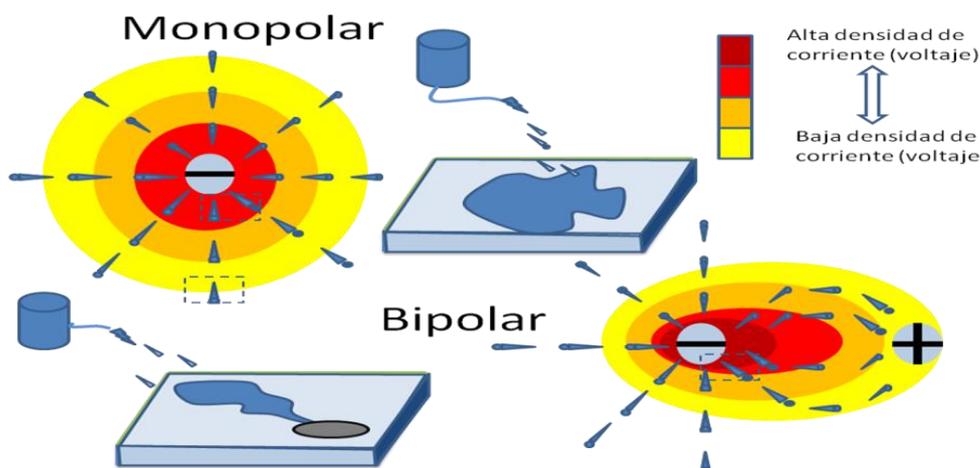


Figura 8- Graficas hipotéticas de las intensidades relativas de los campos eléctricos

En la figura anterior vemos algunos ejemplos de la configuración del electrodo, en ellos se ilustra la similitud entre el flujo de cargas eléctricas y el agua que va fluyendo desde un pitorro, este se asemeja al electrodo negativo y el drenaje al electrodo positivo.

En la configuración monopolar el agua fluye a la superficie sin drenaje y el agua cubrirá la superficie por todas las direcciones, cubrirá un gran área pero no alcanzará ninguna profundidad. La consecuencia será que activará las células mayores y alcanzará una gran distancia desde el electrodo negativo. Sin embargo la corriente no será muy grande y creará una densidad de carga más pequeña o intensidad eléctrica pequeña.

En una configuración bipolar el drenaje atraerá y focalizará el agua, cubriendo un área más pequeña pero de mayor profundidad, lo cual corresponde a una densidad de carga más grande o intensidad eléctrica grande.

3.3 Distanciamiento entre electrodos en la configuración bipolar

3.3.1 Activación celular

La analogía entre el flujo de agua y un flujo de corriente eléctrica, lo podemos observar también en la siguiente figura, (fig 9) donde comparamos las dos configuraciones bipolares.

La estimulación bipolar ancha tiene un campo eléctrico más intenso y por lo tanto más efectivo para nuestro fin de estimular células. Ya que tanto el agua como las cargas eléctricas serán conducidas tanto a través del drenaje como a la membrana celular. Reduciendo la cantidad de carga en la membrana, lo necesario para activar las células.

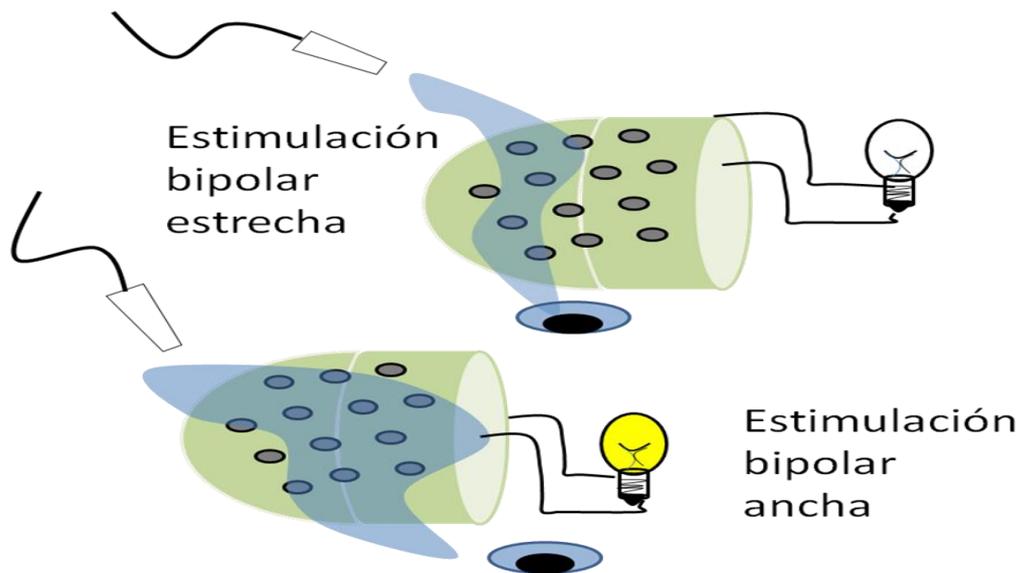


Figura 9- Comparación entre las estimulaciones bipolares en la activación celular.

En la estimulación bipolar estrecha según nuestra (fig. 9) el electrodo positivo, que es el drenaje, está más cerca del pitorro o electrodo negativo y por lo tanto mucha mayor cantidad de agua, como de cargas eléctricas serán conducidas tanto a través del drenaje o electrodo positivo como a la célula.

En la configuración bipolar ancha en la que también el electrodo positivo es el drenaje pero este está lejos del pitorro o electrodo negativo, más carga eléctrica o más agua será aplicada a la membrana celular para poder activar la célula.

Con la estimulación bipolar estrecha más cargas eléctricas serán vaciadas en el drenaje que con la estimulación bipolar ancha pero consiguiéndose más efectividad en la activación celular con la configuración bipolar ancha.

Como hemos mencionado anteriormente la fuerza del campo eléctrico disminuye a medida que la distancia desde el electrodo negativo aumenta, esta caída de la fuerza es más acentuada en la configuración bipolar que en la monopolar. Según las formulas vistas anteriormente, la fuerza del campo eléctrico creado por la estimulación monopolar se reduce a la mitad, cuando la distancia al electrodo negativo se hace doble.

En la configuración bipolar esta fuerza de campo eléctrico se reducirá a $1/4$, cuando la distancia al polo negativo se hace doble.

3.4 Densidad de campo eléctrico en las diferentes configuraciones.

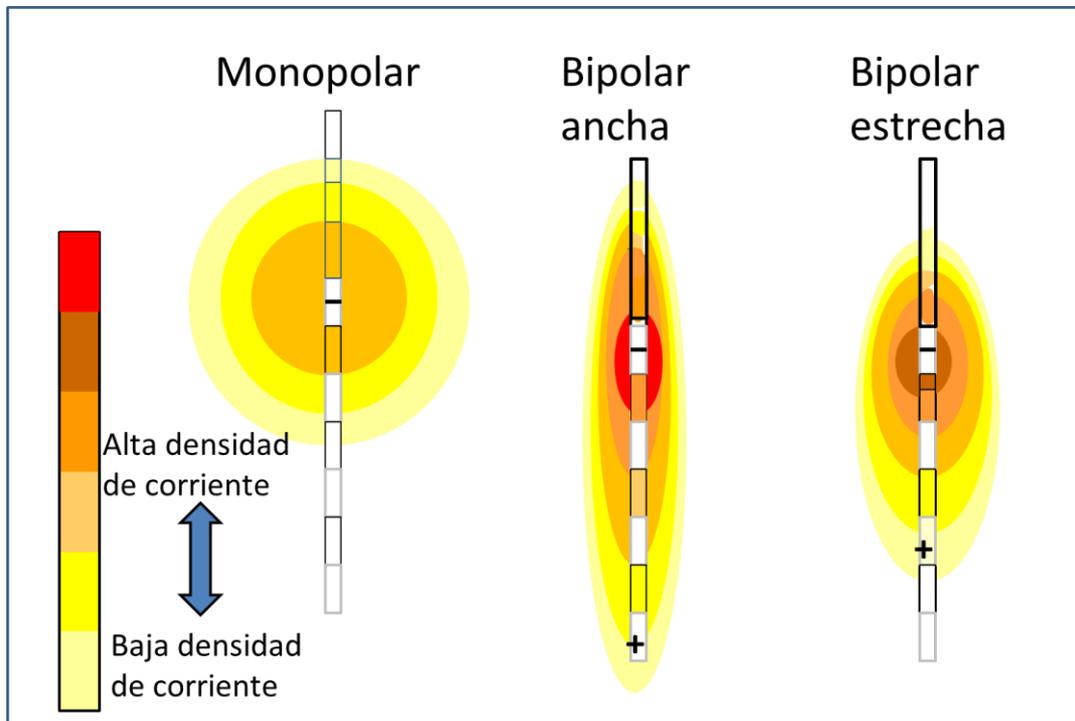


Figura 10- Representación de los tamaños, formas e intensidades de los campos eléctricos en las diferentes configuraciones.

En las configuraciones bipolares la fuerza del campo eléctrico aumenta por el cuadrado de la distancia entre los contactos. Es la figura anterior (fig. 10) vemos claramente como en la configuración bipolar ancha se generará un campo eléctrico más intenso más cerca del contacto negativo que en la configuración bipolar estrecha.

En la configuración bipolar estrecha se generará un campo eléctrico más fuerte que con la monopolar. Como podemos observar también en la (fig. 10) la configuración monopolar creará un campo eléctrico más largo pero menos intenso que con las bipolares.

Estas diferencias en forma, tamaño e intensidad generadas por las diferentes configuraciones del electrodo pueden aprovecharse para aumentar la eficacia y minimizar las estimulaciones no deseadas.

Todo esto nos indica que no solo tenemos que centrarnos en utilizar para nuestra tesis una estimulación bipolar determinada, sino considerar que el tamaño, forma e intensidad de los campos eléctricos pueden tener una indicación dependiendo de la parte de la anatomía del paciente y de la diferencia de un paciente a otro. Gracias al control de estos parámetros podemos maximizar la activación de las células deseadas y minimizar la activación de las no deseadas.

Analizando estos campos electricos desde un punto de vista matemático, tendremos que recordar el concepto de vector de desplazamiento de densidad de flujo eléctrico.

$\vec{D} = \vec{\mu} \vec{E}$, siendo μ la permitividad del medio y \vec{E} el vector del campo eléctrico, pudiéndose resolver mediante las ecuaciones matemáticas de Maxwell y obtener una ecuación de una onda plana que se propaga en la dirección del eje z.

$\vec{E}(z, t) = E_0 \cos(\omega t + k z)$ siendo E_0 la amplitud y el resto es la función coseno que es la que nos da la fase de la onda y k es la constante de propagación.

Representando la ecuacion anterior podremos obtener unas graficas como las mostradas en la figura 11, donde se observa las diferentes densidades de campo eléctrico mediante unos electrodos que no permiten la dirección del flujo eléctrico en dirección perpendicular (fig 11 A), para poder tener un control total en todas las direcciones (fig11 B), necesitaríamos un electrodo selectivo que abarcara el cuadrante necesario para incidir en las células que queremos estimular (fig.11C).

Nosotros estamos analizando en esta tesis electrodos no selectivos, basándonos en dispositivos que contienen varios electrodos agrupados como el mostrado en la (fig. 12) donde representamos los electrodos dispuestos a lo largo de un mismo eje y que de acuerdo con esto nos permie mover el campo eléctrico arriba y abajo dentro de una misma funda cilindrica que es la continuación del cable.

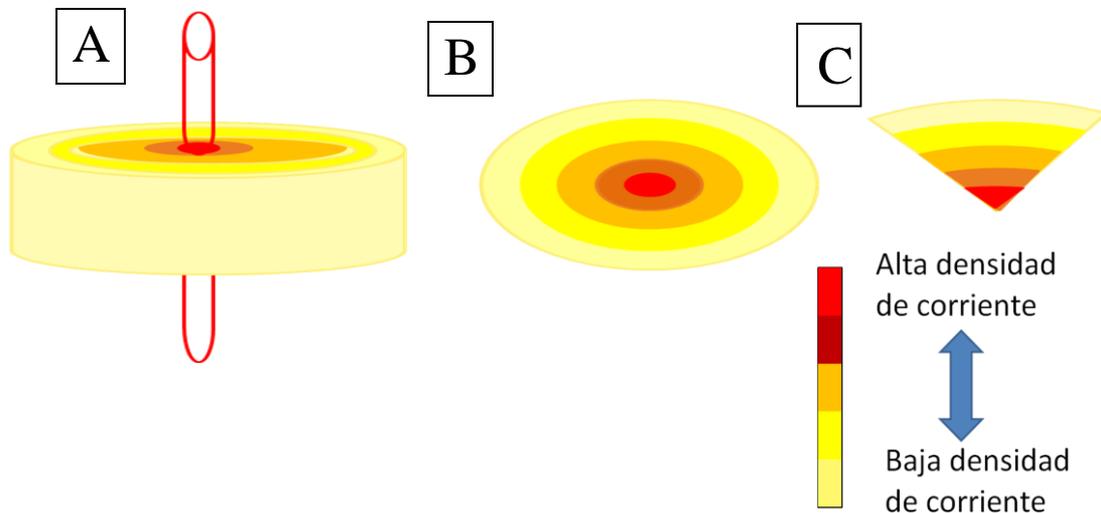


Figura 11- Direcciones de densidades de campo eléctrico para un electrodo

En la presente tesis hemos puesto especial atención en las diferentes agrupaciones entre electrodos, en la figura siguiente (fig.12) mostramos como a partir de un montaje lineal de electrodos es posible mover el campo eléctrico arriba y abajo.

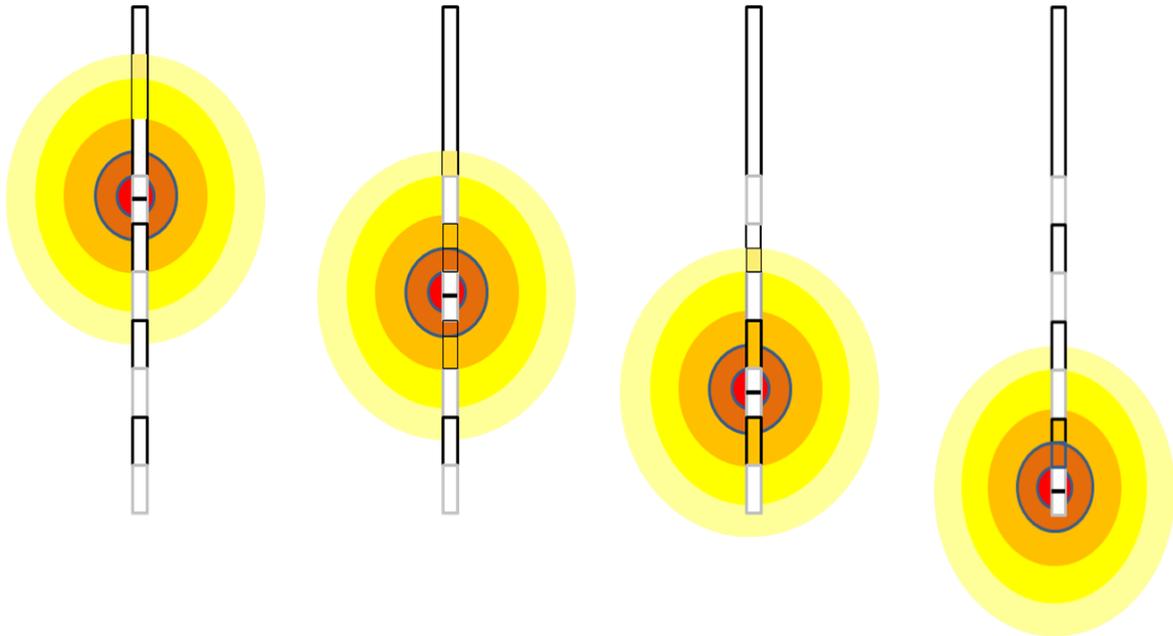


Figura 12- Movimiento campos eléctricos según eje z

Como en el caso anterior, este movimiento del campo eléctrico no abarca la dirección ortogonal, por lo que podríamos disponer de otro set de electrodos situados a 90° , formando una matriz para poder realizar una distribución espacial del campo eléctrico.

Luego la configuración del electrodo junto con la cuidadosa selección de los voltajes, corrientes, ancho de pulso y polaridades es posible llegar a controlar, que regiones celulares alrededor de los electrodos queremos activar.

También podemos utilizar dos trenes de pulsos como los representados en la (fig.13), donde podemos variar en cada tren de pulsos todas las configuraciones y parámetros anteriormente descritos, menos el relacionado con la frecuencia, ya que al pulso estimulante de un grupo le sigue el pulso estimulante del otro grupo para que los pulsos no se solapen.

En la (fig.13 A) vemos la secuencia de disparo de los pulsos, como al pulso de estimulación del primer grupo le sigue un pulso de estimulación del segundo grupo. Cada grupo puede estar asociado con un campo eléctrico diferente (fig. 13 B, C). Hemos visto como cada grupo por separado puede tener un campo eléctrico efectivo, pero que sucede cuando se produce una combinación de los dos (fig.13D).

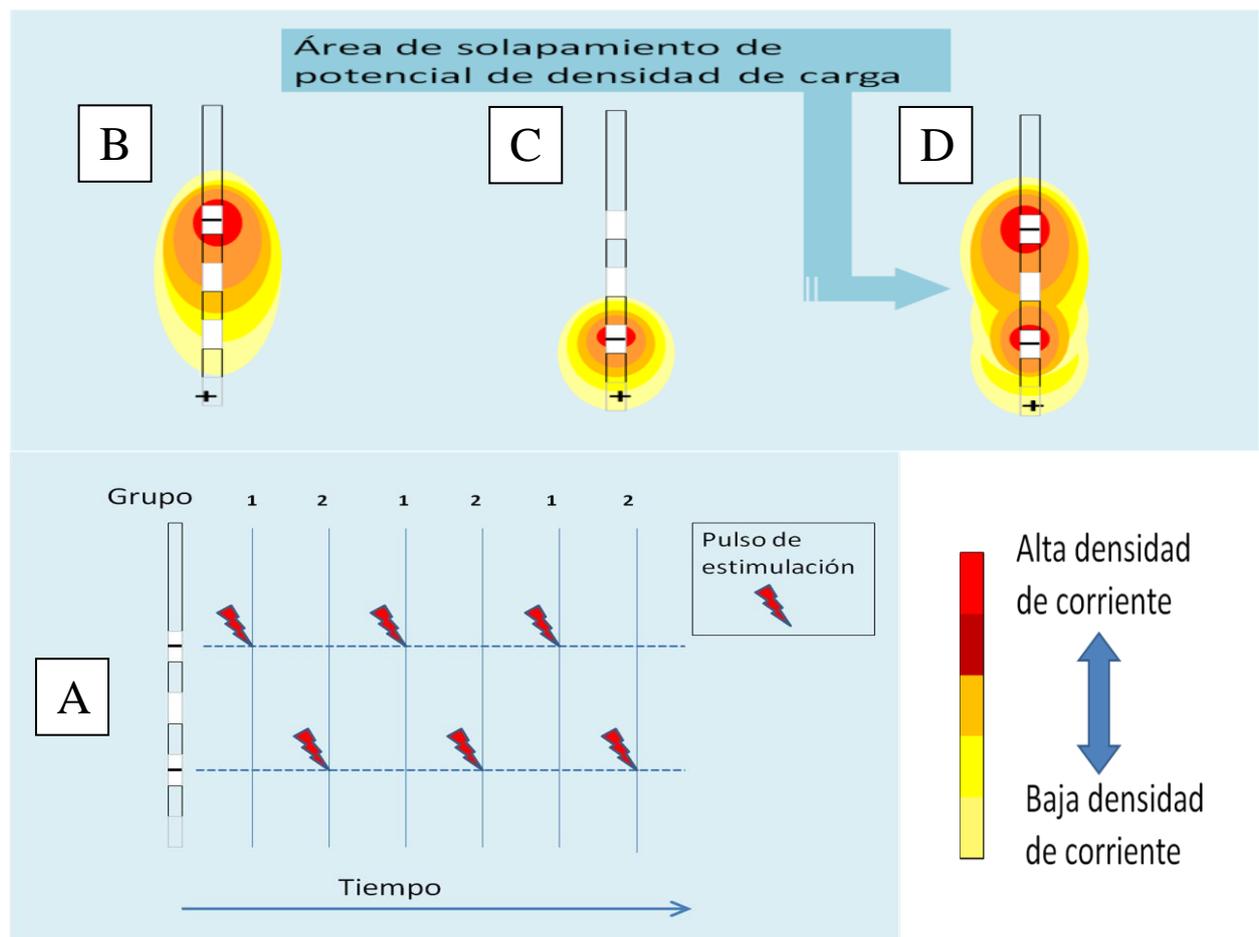


Figura 13- Secuencia de disparo de dos grupos de estimulación

Cuando disponemos de dos generaciones de pulsos y queremos intercalarlos, el retardo de fase entre un pulso del grupo 1 y el siguiente del grupo 2 será mucho menor que entre pulsos del grupo 1 sucesivos. Esto significa que el retardo de fase es dependiente de la frecuencia de cada generación de pulsos.

Existe un desacuerdo sobre que pasaría, si los campos eléctricos generados por cada grupo pudieran solaparse, es posible que se diera una combinación sinérgica de los grupos, resultando en una efectividad del campo.

Hemos encontrado una evidencia insuficiente relativa a estos fenómenos de solapamientos siempre tendremos los efectos del potencial añadido de los dos grupos y las áreas de solapamiento donde habría una densidad de carga mayor. Nosotros debido a esto hemos evitado utilizar anchos de pulso largos.

4- Estimuladores voltaje constante versus corriente constante

Según la ley de ohm $I = V \ / \ Z$ las tres variables, intensidad, voltaje e impedancia pueden cambiar en la estimulación.

Los estimuladores pueden ser de *voltaje constante* o de *intensidad constante*. Pero aunque estas sean constantes siempre habrá diferencias en impedancia.

Los de voltaje constante se diseñan para mantener el voltaje constante en lugar de la intensidad de corriente, los de corriente constante automáticamente ajustan el voltaje a como sea necesario para diferentes impedancias y así mantener siempre la misma intensidad de corriente.

La densidad de carga es la cantidad de cargas electricas repartidas por el estimulador dividida por la superficie del electrodo. El periodo de tiempo que estas cargas son repartidas Será igual al ancho del pulso (pulse width).

En los estimuladores de corriente constante la densidad de carga será:

$$\frac{[\text{(mA)} \times \text{(ancho de pulso)}]}{\text{Área del electrodo}}$$

En los estimuladores de voltaje constante la densidad de carga será:

$$\frac{\text{(Voltaje)}}{Z} \times \frac{\text{(ancho de pulso)}}{\text{Área del electrodo}}$$

La densidad de corriente a una distancia del electrodo dependerá de cómo se esparcen esas cargas a traves de los tejidos. Luego de si ha sido estimulación por corriente o de combinación de voltaje e impedancia del electrodo.

La impedancia de los tejidos será objeto de profundo estudio en esta tesis, dejando claro que es muy importante el posicionamiento del electrodo, porque la impedancia dependerá del tipo de anatomia arededor del electrodo, ya que influenciará hasta donde y en que dirección las cargas eléctricas iran.

Como veremos luego las impedancias de los tejidos no son controlables, pero la configuración del electrodo y la elección de si es estimulación por corriente o por voltaje si son controlables.

En los estimuladores por corriente constante, gracias como hemos visto a la ley de ohm $I = V / Z$, el estimulador a medida que la impedancia va cambiando, este ajusta automáticamente el voltaje y así consigue mantener siempre la misma corriente de estimulación.

En los estimuladores de voltaje constante el cambio de las impedancias resultará en un cambio en la intensidad de estimulación.

La ventaja entre uno y otro la encontramos en la siguiente pregunta.

¿Cuanto varía la impedancia del electrodo?

Normalmente en un estimulador necesitamos que la posición de los electrodos sea la misma para que no encontremos cambios bruscos de impedancia, si desde el principio respetamos la misma posición encontraremos pequeñas diferencias en cada sesión pero a medida que pasa el tiempo los cambios de impedancia serán más pequeños.

Luego podríamos conseguir minimizar los cambios de impedancia para un solo sujeto, pero las impedancias variaran grandemente de unos sujetos a otros. Es por esto que un estimulador a un cierto voltaje en un paciente deberá tener un efecto clínico diferente comparando con otro paciente al mismo voltaje.

Lo anterior deja de manifiesto que es muy difícil de generalizar ó representar comparaciones entre pacientes.

Con corriente constante si encontramos diferentes impedancias todos los contactos donde he inyectado la corriente tendrán el mismo flujo de cargas eléctricas.

Si el voltaje es constante y encontramos impedancias diferentes en todos los contactos no circularán corrientes iguales. Luego para voltaje constante si tú no conoces la impedancia del tejido no puedes conocer cuanta carga eléctrica esta siendo suministrada (la dosis no se conoce). Podemos aplicarlo, pero necesitamos reajustar la dosis en cada sesión.

¿Cuánto variará la impedancia en el tiempo para un paciente dado?

¿ y entre un paciente y otro?

Para responder a estas preguntas trataremos más adelante el tema de la bioimpedancia, pero si podemos adelantar que con el método de voltaje constante es muy difícil poder aprender de la experiencia de un paciente a otro, ya que como veremos existe una gran variabilidad de impedancias entre pacientes. También hemos visto como en la corriente alterna, cuanta más alta es la frecuencia, más alta será la impedancia al paso de la corriente.

En los estimuladores de corriente constante se está en todo momento ajustando el voltaje para repartir la misma cantidad de cargas eléctricas independientemente de la impedancia.

Podemos ver en la (fig. 14) como hacemos un simil hidráulico, en el que representamos la impedancia como la oposición de la manguera al paso de la corriente y el voltaje como la altura de los depósitos de agua.

En el caso B de esta figura podemos ver como la manguera es mucho más gorda esto quiere decir que la impedancia eléctrica será mucho menor. En el caso A por el contrario la manguera será mucho más pequeña, luego ofrecerá mucha más impedancia.

Podemos afirmar consecuentemente de la (fig. 14) que si no hay aumento en el voltaje (altura del depósito), en el caso A se repartirá menor carga eléctrica que en el caso B.

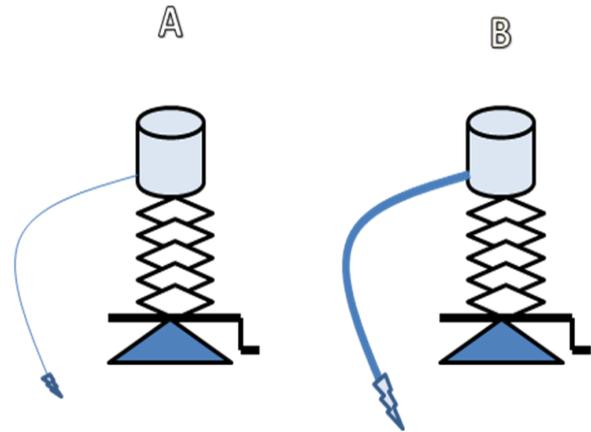


Figura 14- Símil hidráulico de la impedancia de los tejidos con un mismo voltaje aplicado

Estamos viendo como el voltaje y la corriente eléctrica no son lo mismo. En un estimulador de corriente constante para cambiar el electrodo de un contacto de baja impedancia (manguera ancha, caso B) a un contacto con alta impedancia (manguera estrecha, caso A) si no cambias el voltaje (aumentar la altura del depósito) menos carga eléctrica será repartida. Por lo que menor efectividad en el tratamiento con el estimulador se obtendrá.

También podemos ver en la (fig. 15) el simil hidráulico en el (caso c) de esta figura, en la cual tenemos un contacto con alta impedancia (manguera pequeña) y voltaje alto (depósito elevado). En el (caso D) encontramos dos contactos con la misma impedancia (dos mangueras con el mismo diámetro).

Evaluando ambos casos vemos como la impedancia general bajará en el caso D, por lo que más carga eléctrica se repartirá en este. Esto podría ser perjudicial para nuestro tratamiento, ya que habría un exceso de flujo de corriente eléctrica.

Debido a lo anterior deberíamos haber podido bajar el voltaje (altura del depósito) como podemos apreciar en el caso E, para poder aplicar la cantidad exacta de corriente eléctrica.

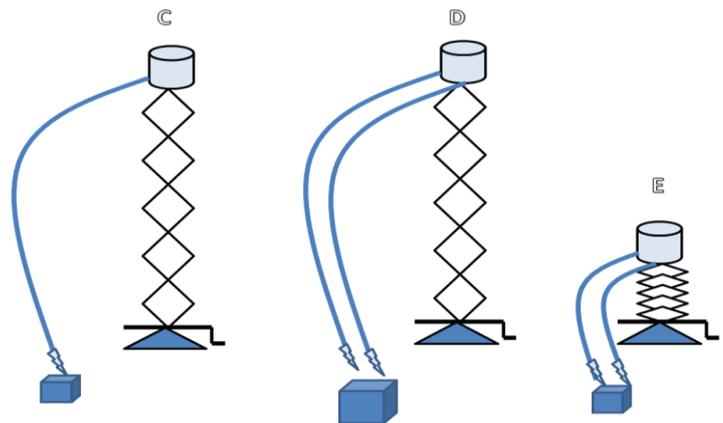


Figura 15- Símil hidráulico de la impedancia de los tejidos con distinto voltaje aplicado

Luego una ventaja de un equipo de corriente constante es que no tienes que estar preocupado acerca de una corriente excesiva. En un estimulador de corriente constante el voltaje se está ajustando constantemente, como veíamos en la figura anterior (altura del tanque de agua), para asegurar que la misma cantidad de corriente es repartida independientemente de las impedancias de los contactos (mangueras).

Vamos a realizar otra analogía, en lugar de utilizar la anterior (hidraulica), utilizaremos el simil de un coche que sube y baja una colina. (fig. 16)

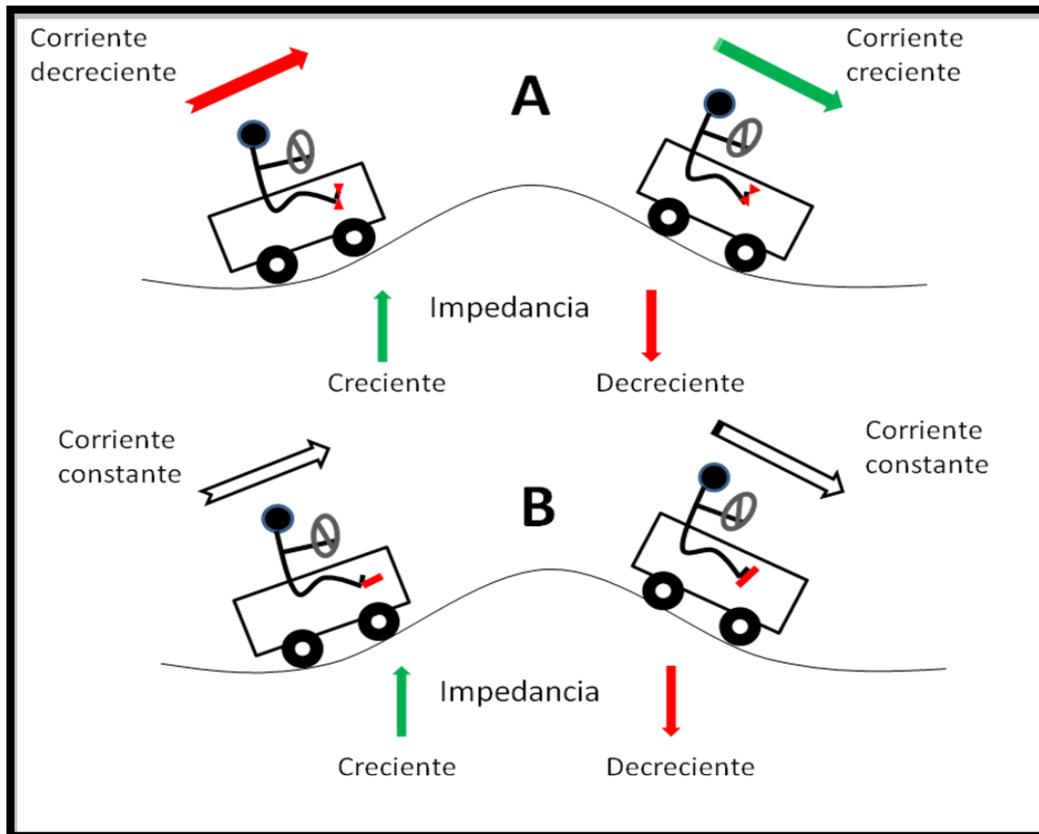


Figura 16- Símil entre como reparte corriente un estimulador y un coche en una colina

En este coche el acelerador es análogo al voltaje, la altura de la colina y el efecto de la gravedad en el coche representa la impedancia, la velocidad del coche es análoga a la corriente eléctrica.

Podemos ver que un estimulador de voltaje constante esta representado por la (fig. 16 A) en la que observamos como el conductor deja el acelerador en la misma posición independientemente que sea colina arriba o colina abajo. A medida que el coche sube la colina el efecto gravitacional causa una impedancia más grande al coche.

Cuando el coche frena quiere decir que corresponde menos corriente eléctrica. A medida que el coche baja la colina, representa una disminución en impedancia.

Si el coche va más deprisa repartimos más corriente eléctrica. Un estimulador de corriente constante (fig 16 B) es análogo a un control de velocidad de crucero, automáticamente se ajusta el acelerador, el coche va a la misma velocidad aunque suba o baje la colina.

Hemos visto como es la impedancia la encargada de oponerse a la conducción de la corriente al tejido celular. Sin embargo veremos a continuación como también hay otra variable fundamental, que es la Capacitancia. Cuando aplicamos a los contactos de metal el voltaje del estimulador, este empuja a la carga eléctrica para que entre en el tejido celular. El tejido celular no es un buen conductor de la carga eléctrica comparado a los contactos de metal de los electrodos que tienen muy poca impedancia, al efecto de esta, habrá que sumarle el efecto capacitivo (fig 17).

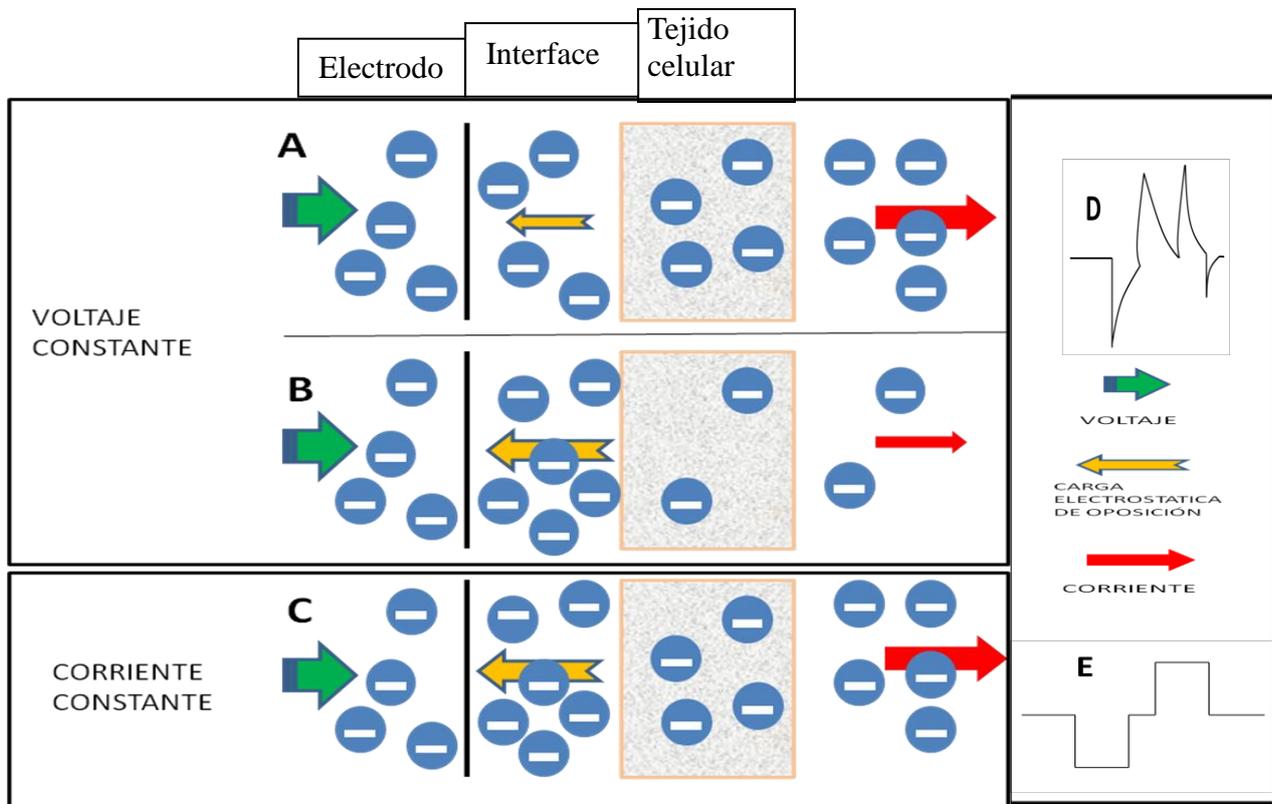


Figura 17 - Acumulación de carga electrostática (efecto capacitivo interfase electrodo- tejido)

Esta capacitancia proviene de que la carga eléctrica se apile en la interfase de la superficie del electrodo y la superficie del tejido celular, este apilamiento de carga eléctrica causa una fuerza repulsiva que se opone a que continúe el flujo de carga eléctrica al tejido celular. Debido a lo anterior encontraremos una disminución de la corriente eléctrica.

En la (fig. 17 A) vemos como la carga se va acumulando entre la interfase electrodo – tejido. A medida que está acumulación aumenta se crea una carga electrostática creciente que se opone al voltaje de estimulación y el resultado es menos carga eléctrica que fluye al tejido celular (fig. 17 B).

Una vez que la fase de estimulación se completa cuando paramos el estimulador la carga acumulada en la interfase electrodo – tejido actúa como una batería que manda carga en sentido contrario hacia el electrodo, causando una fuerza electromotriz inversa.

El resultado anterior se pone de manifiesto cuando medimos el voltaje en el tejido celular (fig. 17 D) que nos muestra un pulso con una forma de onda complicada.

Los estimuladores de corriente constante son capaces de ajustar el voltaje de estimulación para contrarrestar la acumulación de carga electrostática y por lo tanto mantiene una mucho más constante corriente eléctrica al tejido celular (fig. 17 E). Como apreciamos en la figura donde se convierte en una verdadera forma de onda cuadrada, que es mucho más apropiada para la estimulación. Luego el efecto de la corrección del voltaje es una ventaja significativa para estos estimuladores de corriente constante frente a los de voltaje constante, ya que los de voltaje constante no pueden contrarrestar la acumulación de carga electrostática de oposición.

5- Depolarización celular.

5-1 Depolarización con generación de potencial de acción

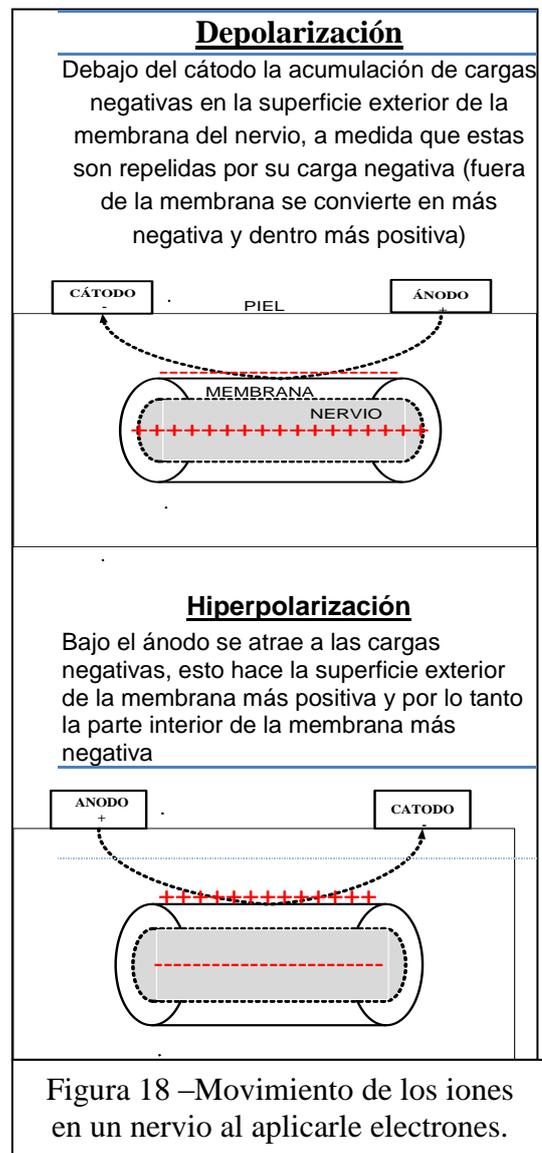
Mediante un pulso, el estimulador puede llegar a generar un potencial de acción. Ya que este puede llegar a depolarizar la membrana de la neurona.

Esto se consigue reduciendo la diferencia entre la positividad de fuera de la membrana y la negatividad de dentro de la célula.

Los estimuladores pueden hacerlo vaciando de cargas negativas y poniéndolas fuera de la célula.

Los electrones procedentes del electrodo son convertidos en iones cargados negativamente. Gracias a esto la membrana de la célula es menos negativa o depolarizada.

En el caso de que fuera una neurona, como en la fig. 18, podría estar depolarizada pero podría ser un mecanismo de bloqueo, ya que todavía estaría más abajo del umbral necesario para generar un potencial de acción.



En el siguiente apartado trataremos de cómo se puede hacer la membrana menos negativa (depolarizarse) sin llegar a producirse un potencial de acción en una neurona.

En la presente tesis utilizaremos este mecanismo como una posible acción terapéutica en el caso estudio que aquí es tratado.

Este fenómeno es conocido como una depolarización de bloqueo, zona roja (fig.19).

Aunque el transporte de cargas en la membrana como hemos comentado puede ser pasivo o por difusión, estando ambos condicionados por un gradiente electroquímico, es decir, una diferencia de concentración, una diferencia de potencial. La principal característica que distingue el proceso de difusión del transporte activo es la necesidad de una fuente adicional de energía en los procesos activos.

No solo nos vamos a centrar en la difusión o intercambio de iones puesto que este es el principal responsable de la generación y transmisión del potencial de acción.

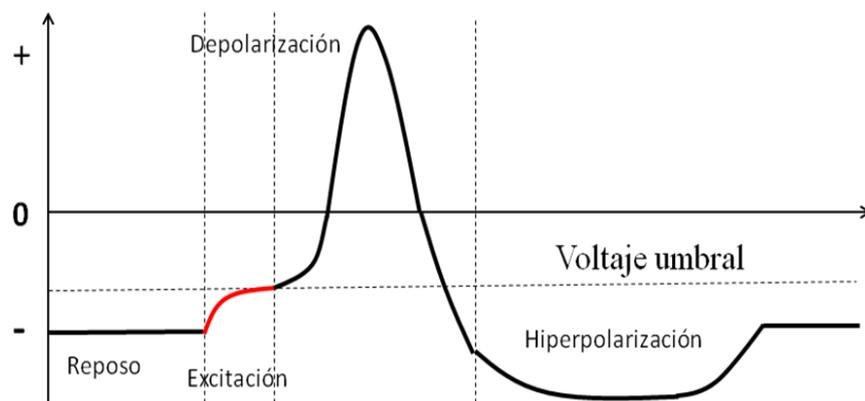


Figura 19 – Voltaje transmembrana en un potencial de acción

5-2 Depolarización sin generación de potencial de acción

Hemos visto como las activaciones celulares pueden ser causadas por el flujo de cargas eléctricas a través de la membrana celular. Estas cambian el voltaje a través de la membrana.

Los requerimientos necesarios para que suceda esto son:

- Tiene que existir una fuerza que mueva las cargas eléctricas.
- Este flujo de cargas debe ser controlado con precisión y es análogo a un interruptor en un circuito eléctrico.

Cada célula es como una batería en la cual hay un relativo polo positivo y un relativo polo negativo (fig. 20)

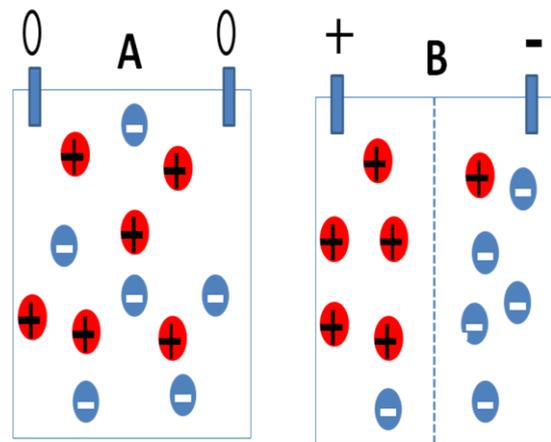


Figura 20
Similitud iónica celular con una batería

Una Batería eléctrica requiere una separación de cargas eléctricas, en la figura anterior vemos que cuando no existe separación (fig. 20 A), las cargas positivas y negativas se equilibran entre ellas, produciéndose 0 voltios en los terminales.

Sin embargo, si se inserta una barrera (fig.20 B), los iones positivos son bombeados al lado izquierdo y los iones negativos son bombardeados al lado derecho, entonces el lado izquierdo quedará positivo y el lado derecho negativo.

Hemos visto como separando las cargas creamos una batería. En la (fig.21) vemos como existen dos fuerzas que conducen los diferentes iones a cada lado:

a-Hay una diferencia en concentración de los diferentes iones en cada lado de la membrana semipermeable. Esta diferencia da lugar a una fuerza, que trata de mover los iones para producir igual concentración en cada lado de la barrera.

b-La segunda fuerza es eléctrica, ya que las cargas eléctricas iguales se repelen y las cargas distintas se atraen. Esto resulta en una fuerza que quiere mover los iones positivos a la derecha y los iones negativos a la izquierda.

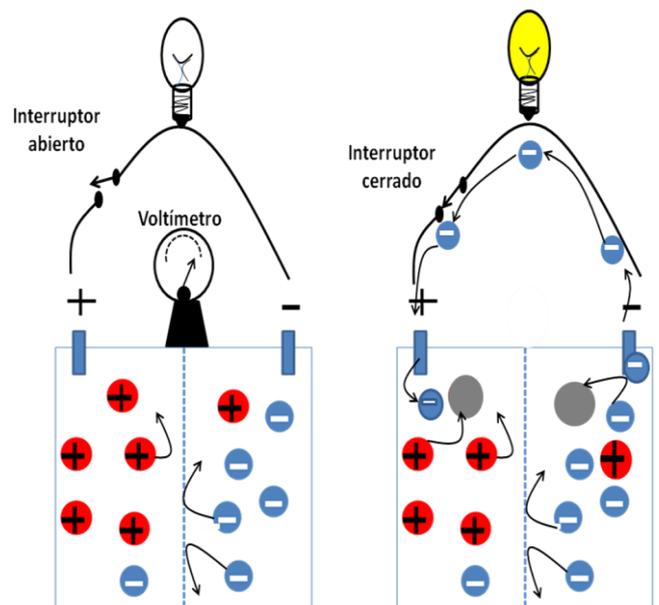


Figura 21 – Movimiento de iones en una batería

6-Activación celular

La fuerza mencionada anteriormente es la fuerza electromotriz y puede ser medida por un voltímetro.

Esta fuerza eléctrica puede ser usada en aparatos eléctricos como una bombilla, esta fuerza puede mover cargas eléctricas produciendo luz en la bombilla si el interruptor está cerrado.

Cuando el interruptor cierra los iones negativos abandonan un electrón que fluye a través de la bombilla haciéndola lucir y este electrón se dirige hacia los iones positivos en el otro lado de la membrana semipermeable.

Las células son como baterías tienen un polo relativamente positivo y otro relativamente negativo, (fig. 22). Los dos iones que son responsables de la batería celular son el Na^+ y el K^+ . El número de iones Na^+ es más grande fuera de la célula que dentro haciendo la parte de fuera de la célula relativamente más positiva que la de dentro. Lo mismo que los electrones fluyen a través de un hilo de cobre, los iones que tienen carga eléctrica fluyen a través de las células.

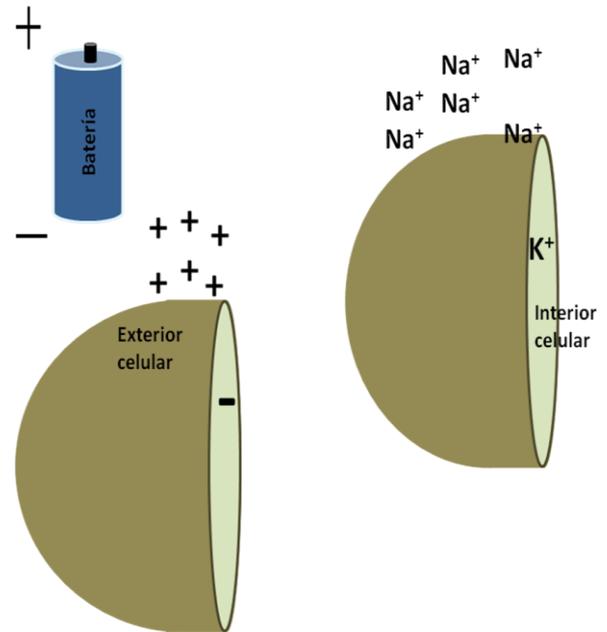


Figura 22- Similitud célula con batería

La activación celular la consideramos como un circuito cerrado que permite a los electrones que fluyan a través de las células. Aunque en la (fig. 23) representamos los iones de sodio como responsables, también juegan un papel importante el resto de iones. Sin embargo si consideramos un potencial de acción en una neurona, el principal actor si sería el Na^+ .

El número más grande de iones positivos fuera de la célula causa que el voltaje de dentro de la célula sea más negativo.

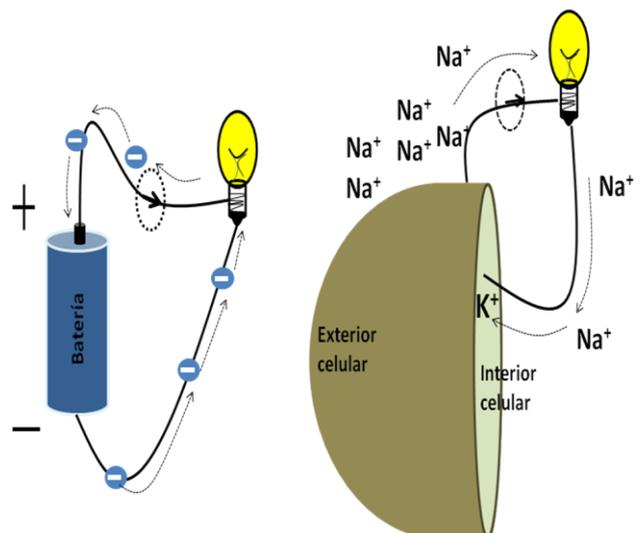


Figura 23 – Símil encendido bombilla y la activación celular

6.1 Activación celular por aplicación de electrones

Pensamos que mediante la estimulación eléctrica seremos capaces de cerrar el circuito en la membrana celular y así poder activar a las células.

Como oposición a los electrones de nuestro estimulador, las cargas eléctricas son mediadas en los tejidos celulares principalmente por iones como el Na^+ , K^+ y en menor medida por el Cl^- y el Ca^{2+} .

Hemos visto como las diferencias de concentración iónica de dentro y fuera de la membrana celular nos dotan de la fuerza necesaria para que los Na^+ se muevan dentro y los iones potasio se muevan fuera

Este movimiento iónico es un mecanismo de control de gran precisión que es determinado por el voltaje como vemos en la (fig. 24). Este mecanismo de control conocido como canales de conductancia iónica, son como un interruptor que está cerrado en reposo y se abre un poco para permitir la activación celular.

Como vemos en la figura en reposo la membrana tiene un potencial constante algo negativo, cuando se abren estos canales eléctricos que están hechos de proteínas, el voltaje de la membrana se hace menos negativo.

La pequeña depolarización que necesitamos para conseguir la activación celular, la obtendremos, si podemos alcanzar con la carga eléctrica de nuestro estimulador el fluido exterior de la membrana celular.

Las cargas eléctricas que salen del electrodo negativo de nuestro estimulador durante la fase catódica, causan una reducción de la carga positiva de fuera de la célula y consiguientemente una reducción del voltaje transmembrana de reposo.

De esta manera conseguiremos una pequeña depolarización, que pensamos sería suficiente para permitir la apertura de algunos de estos canales y así permitir el flujo de iones necesarios para la activación celular.

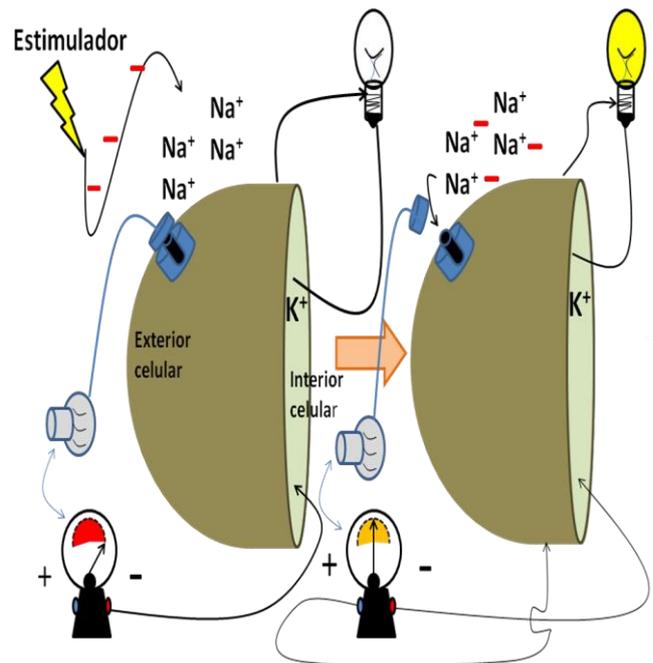


Figura 24 – Esquema de la activación de la célula al aplicar electrones por nuestro estimulador.

6.2 Condiciones de contorno

Otro parámetro a tener en cuenta es la orientación de las líneas de campo eléctrico con respecto a la célula.

Estas líneas fluyen desde el electrodo negativo (ánodo) al electrodo positivo (cátodo).

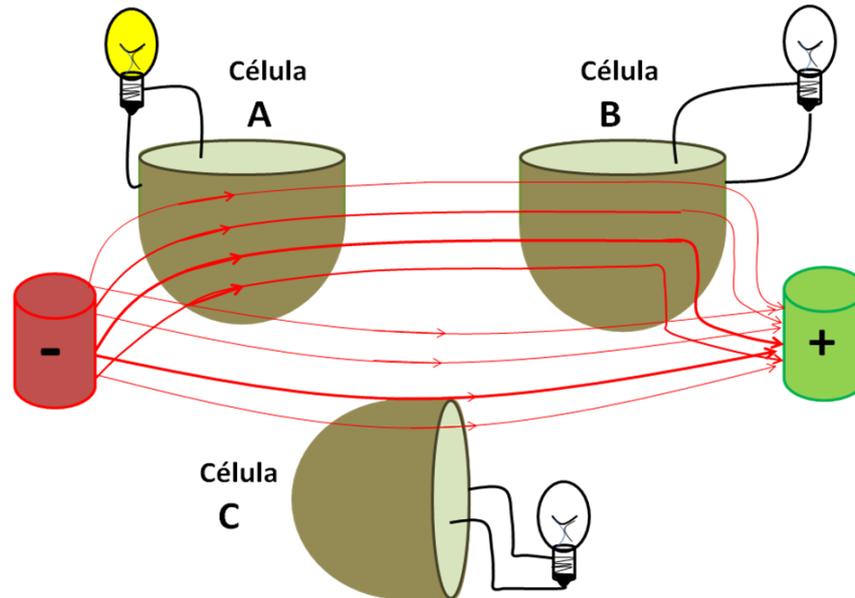


Figura 25

Orientación relativa de la membrana celular respecto a las líneas de fuerza del campo eléctrico

Aunque la orientación de las líneas del campo eléctrico con respecto a la membrana celular es relativa, ya que es muy difícil de conocer la orientación exacta, es importante conocer estos conceptos.

En la (fig. 25) mostramos unos ejemplos hipotéticos, en los casos A y B hemos querido representar la orientación de la membrana celular perpendicular a las líneas de fuerza del campo eléctrico.

La forma en S de la curva de la membrana favorece que las cargas eléctricas tiendan a acumularse, conduciendo a una depolarización de la membrana celular, pero en la célula B al estar cerca del electrodo positivo no recibirá esas cargas y por consiguiente al contrario que la célula A no se activará.

Asimismo las células cuyas membranas estén orientadas paralelas a las líneas de fuerza del campo eléctrico no recibirán las cargas eléctricas y esas partes de la célula no serán activadas.

■. MATERIALES Y METODOS ESTIMULADOR

En esta parte de la tesis queremos ilustrar como hemos seleccionado el estimulador apropiado de entre todas las disciplinas de la electroterapia, su adaptación y la técnica de aplicación novedosa desarrollada.

Es necesario, para llevar a cabo una aplicación de microcorrientes apropiada, conocer sus bases científicas, su acción sobre el organismo y la capacidad de los modernos aparatos.

Tenemos que decidirnos y escoger, ¿ A que nivel del cuerpo humano nos vamos a centrar para poder elegir los parámetros eléctricos? Este será uno de los condicionantes principales para escoger un tipo de aparato u otro. A nivel molecular, a nivel celular o a nivel tisular.

Nosotros necesitamos alcanzar para nuestro estudio las células T infectadas del intestino, con microcorrientes eléctricas, ya que con este tipo de microcorrientes se ha demostrado que es posible aumentar la producción de ATP un 500 % y esta falta de ATP en las células infectadas se piensa que juega un papel importante en la interrupción de la transcripción del virus (preintegración de latencia).

En el nivel celular tenemos que considerar que la corriente actuará distintamente en tres compartimentos la masa celular, el líquido extracelular y los sólidos extracelulares. Este nivel puede ser interesante desde el punto de vista bioquímico y de metabolismo energético.

En cambio en el nivel tisular deberemos escoger los parámetros eléctricos considerando los diferentes tipos de tejidos óseo, adiposo, muscular, etc. o quizás más exhaustivamente dentro del adiposo el subcutáneo, perivisceral, intersticial o médula ósea amarilla.

1- Simulación y análisis tejidos biológicos, impedancias y diagramas de cole-cole.

El parámetro fundamental que comentaremos a continuación es la impedancia bioeléctrica está es observada a nivel molecular, como la capacidad del cuerpo humano para conducir corriente eléctrica. La variación que sufre una corriente eléctrica alterna de una intensidad lo suficientemente pequeña para no ser percibida por el sujeto, al pasar a través del organismo, asumiendo que el cuerpo humano y sus segmentos (extremidades) se pueden considerar como conductores con una longitud y un área determinadas. La oposición que ofrece un conductor, en nuestro caso el organismo, al paso de la corriente eléctrica se denomina impedancia. Su inversa es la conductividad del organismo y depende de su contenido en agua y electrolitos, por lo que la conductividad de tejidos en los que abundan estos frente a otros con mayor contenido en grasa será mayor.

Basándonos en la ley de Ohm, aplicando el concepto de que la impedancia es directamente proporcional a la longitud L del conductor, e inversamente proporcional a la superficie de sección A de dicho conductor.

$$Z = \rho \frac{L}{A}$$

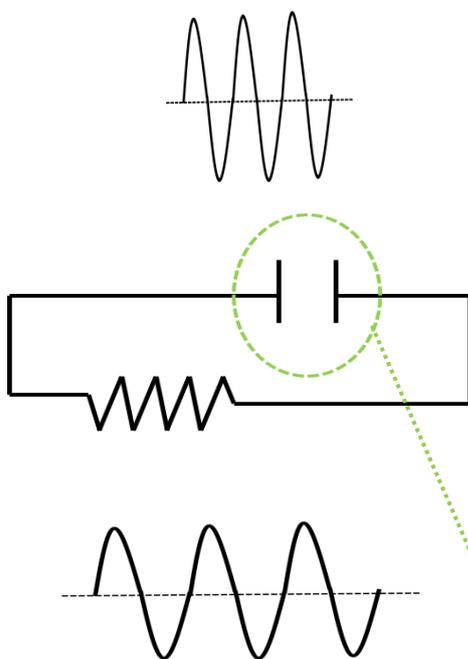
Esta es la fórmula general para la impedancia de un conductor. Siendo ρ la constante de resistividad, que depende del tipo de elemento conductor.

Esta formula podría aplicarla directamente y asumir el cuerpo humano como un solo cilindro conductor de sección uniforme, o asumir el organismo como cinco cilindros de sección variable conectados en serie, que contribuyen de forma diferente a la impedancia total del organismo.

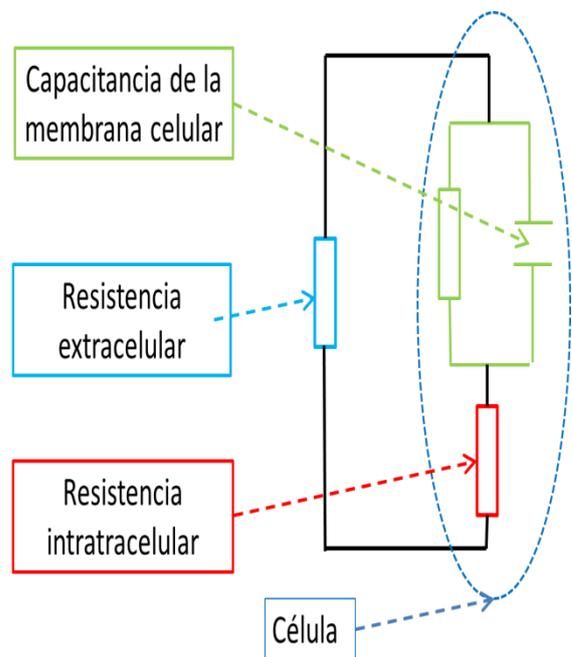
La impedancia depende de la frecuencia de dicha corriente. A frecuencias de 1-5 kHz la corriente pasa solamente por los líquidos extracelulares, mientras que a frecuencias mayores de 50-100 kHz pasa por los líquidos extra e intracelulares.

La corriente de baja frecuencia eléctrica se propaga como si no existieran las células y las interfases tisulares, mientras que la corriente de alta frecuencia, atraviesa las membranas celulares y se propaga por el interior de la célula. Luego los trayectos de la corriente eléctrica según sea la frecuencia será:

Frecuencia **Vía intracelular**



Frecuencia **Vía extracelular**



Las membranas de las células y las interfases celulares se comportan como un condensador

Figura 26. Simulación con circuitos eléctricos

La impedancia tiene dos componentes y se expresa según la fórmula :

$$Z = \sqrt{R^2 + X_c^2}$$

Siendo:

Z: impedancia, R: resistencia, X_c : reactancia

Utilizando un símil eléctrico, la reactancia está causada por las propiedades dieléctricas de las interfases tisulares y de las membranas celulares al paso de la corriente, las cuales al actuar como placas de un condensador se cargan en sentido contrario de forma alternativa durante un breve período de tiempo, produciendo un retraso en el tiempo la circulación de la corriente eléctrica; mientras que la resistencia es la oposición simple del organismo al paso de la corriente. La resistencia está relacionada directamente con el contenido de agua y electrólitos de los fluidos intra y extracelulares, mientras que el significado biológico de la reactancia es menos claro.

Las relaciones vectoriales entre impedancia, resistencia, reactancia y el ángulo formado entre ambos vectores, llamado ángulo de fase, se esquematizan a continuación,

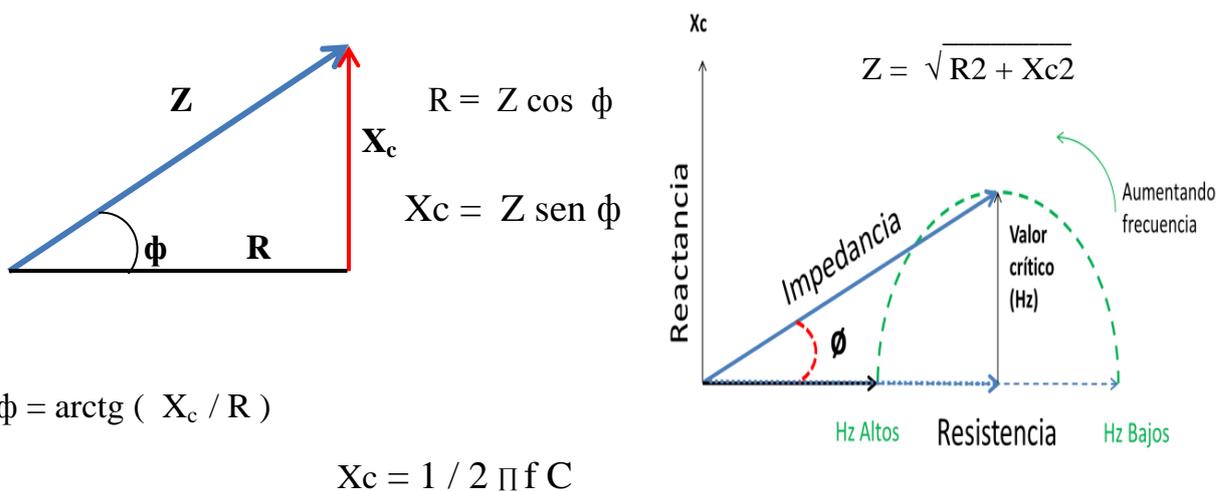


Figura 27. Triángulo de impedancia y variación X_c , R y Z en función de la frecuencia (diagrama de cole-cole)

De estas formulas se desprende que a frecuencias de corriente muy altas la impedancia está determinada casi totalmente por la resistencia, mientras que conforme va disminuyendo la frecuencia el ángulo de fase y el componente reactivo de la impedancia aumentan. Si la corriente eléctrica atraviesa las membranas celulares y las interfases de los tejidos, también aumenta la reactancia capacitiva lo que lleva a una disminución proporcional del valor de la resistencia. Los términos de impedancia y resistencia se usan de forma equivalente ya que la reactancia supone aproximadamente el 10% del valor total de la impedancia; a medida que la frecuencia de la corriente aumenta su penetración es casi idéntica en todos los tejidos, con lo que la reactancia vuelve a disminuir, de tal forma que a frecuencias mayores de 100 KHz. el componente reactivo de la impedancia es mínimo.

En la figura 27 en la derecha vemos el comportamiento conductivo de los tejidos biológicos podemos destacar la gráfica de cole-cole, en la cual representamos los valores reales e imaginarios de la impedancia y esto se consigue simulando los tejidos biológicos como circuitos eléctricos con resistencias y condensadores.

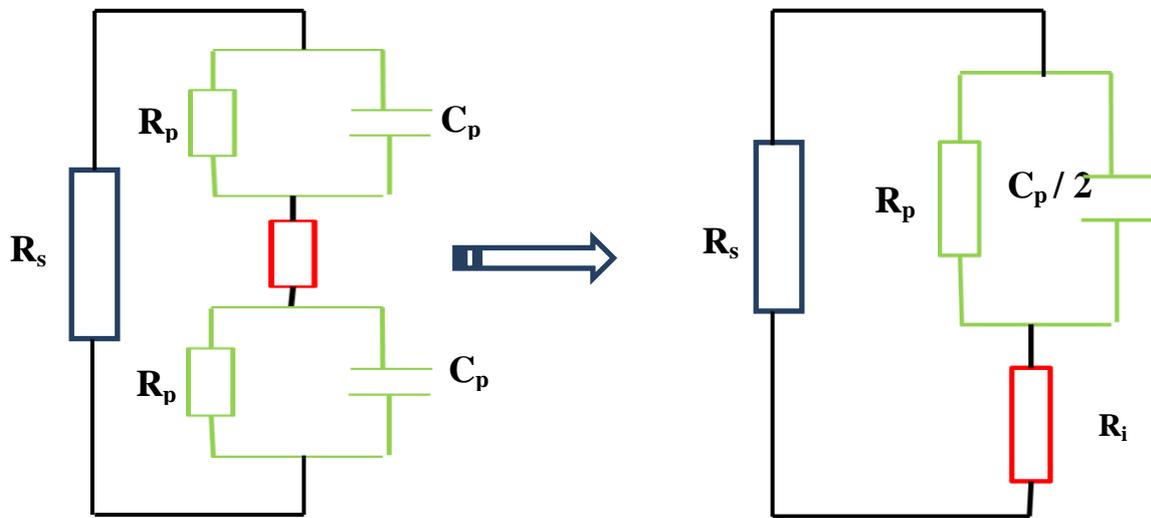


Figura 28- Circuito equivalente

La figura anterior nos muestra la simulación mediante circuitos eléctricos del paso de la corriente a través de un tejido biológico como puede ser la piel humana. También nos muestra su circuito equivalente después de su simplificación matemática.

Es el circuito equivalente más simple, el cual se utiliza en el estudio de tejidos biológicos, está formado por un circuito de resistencia (R_p) y condensador (C_p) en paralelo, con una resistencia en serie, R_s adicional que, en general, refleja la resistencia eléctrica de la interfase muestra-electrodo y mantiene un valor despreciable con respecto a R_p .

La resistencia en paralelo en un modelo eléctrico es un factor importante en la representación de la conductividad dentro de un fluido.

La formula que da lugar al diagrama de cole-cole es :

<u>Parte real.</u>	<u>Parte imaginaria</u>
$R_e = R_\infty + \frac{R_0 - R_\infty}{1 + (WT)^2}$	$I_m = \frac{(R_0 - R_\infty) WT}{1 + (WT)^2}$

Donde W es igual a $(2 \pi f)$ y f es la frecuencia de la corriente que vamos a aplicar, R_∞ es la resistencia cuando la frecuencia se hace muy grande (infinito). Del circuito eléctrico equivalente anterior sacamos que $T = R_p * C_p$ y R_0 es la resistencia cuando la frecuencia es muy pequeña (tiende a cero). Este es el comportamiento RC ideal de un tejido biológico, representado por su impedancia eléctrica.

Aunque durante la aplicación de la corriente eléctrica habrá cambios bruscos de impedancia debido, por ejemplo al intercambio iónico electrolito-piel, al sudor, humedad ambiente, temperatura, etc. que influirán la conductancia de la piel. Pensamos que se pueden simular los tejidos y estos pueden presentar características semejantes a las de un circuito R-C, donde R_p y C_p se comportan como resistencia y condensador variable.

Si conocemos, que ángulo de fase tiene el triangulo anterior, podríamos tener una idea de como esta funcionando la membrana celular, o las interfases celulares.

A frecuencias muy bajas 50 Hz los compartimentos intracelular y extracelular se comportaran como dos circuitos conectados en paralelo separados por una pared celular, a estas frecuencias la penetración de la corriente en el espacio intracelular es incompleta.

Como hemos dicho anteriormente a frecuencias bajas 1-5 kHz, la corriente se mueve alrededor de las células, mientras que a frecuencias altas, de 100-500 kHz, la corriente penetra en su interior. Las resistencias especificas de los compartimentos intra y extracelular son diferentes, así la resistencia a baja frecuencia correspondería al extracelular y la resistencia a bajas y altas frecuencias correspondería a la resistencia intracelular.

Podemos considerar que a frecuencias muy pequeñas cercanas a 0 kHz. La corriente no penetra en las membranas celulares y solo circularía por los fluidos extracelulares. Mientras que a frecuencias muy elevadas, la corriente atravesaría también el interior celular, y el valor de la resistencia representaría la combinación de ambos compartimentos intra y extracelular.

Si consideramos el cuerpo humano como una unión de 5 cilindros (tronco y extremidades) con un área y una longitud determinada y medimos su impedancia al aplicar una corriente eléctrica a través de ellos. La impedancia total estará compuesta en un 50% por la impedancia de los miembros inferiores, un 40 % por la impedancia de los miembros superiores y el 10% restante por la impedancia del tronco. Pero esto no coincide con la contribución al peso corporal ya que los miembros inferiores y superiores representan un 17 % y un 7 % respectivamente y el tronco un 53% del peso corporal .

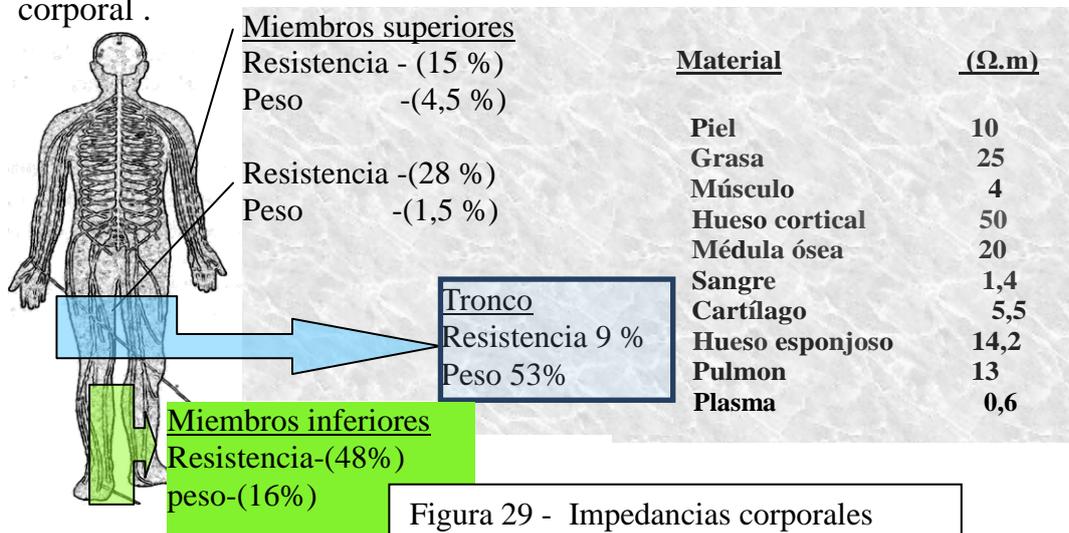


Figura 29 - Impedancias corporales

Tenemos que intentar saber: ¿Como va a viajar la corriente eléctrica a través del cuerpo?, ¿Qué proporción de corriente se propaga intracelular ó extracelularmente?, ¿Cuanta a través de sangre ó de músculo? y ¿Cuanta por medio de grasa o de tejidos libres de grasa?.

Aunque los caminos normales por los que viaja la corriente eléctrica podrán variar de persona a persona, ya que habrá diferencia en tamaño corporal, forma, electrolitos, distribución de líquido, y otros aspectos como composición.

Nosotros no podemos garantizar que la corriente penetre a través de las membranas celulares y que pase libremente a través de todos los líquidos. Tendremos que asumir que la corriente es llevada principalmente por el líquido extracelular y que algo pasa a través del líquido intracelular. Por lo que no podemos tratar el cuerpo humano como los cinco cilindros conductores que hemos comentado anteriormente.

Para explicar como la corriente eléctrica de alta frecuencia, que podríamos utilizar en nuestro ensayo aumenta la conductividad de los tejidos, sería como si la corriente de alta frecuencia aumentara el porcentaje de volumen de la suspensión que es accesible por esta corriente eléctrica.

En el comportamiento de la conductividad de los tejidos biológicos con respecto a la frecuencia existen tres tipos de dispersiones:

- 1- La dispersión α que la encontramos hasta las frecuencias de 100 Hz y consiste principalmente en el efecto contraión que es una difusión iónica de los iones.
- 2-La dispersión β que se sitúa entre los 10 MHz y los 100 MHz, es debida a la relajación bipolar del agua y muestra las características capacitivas de las membranas celulares. Esta dispersión puede llegar a una variación en la conductividad de 1(S/m).
- 3- La dispersión δ está para frecuencias mayores de 100 MHz, en esta zona encontramos el gran aumento de la conductividad, que es debido a efectos de polarización, ya que las moléculas polares pierden sus propiedades dieléctricas, se llama relajación dieléctrica ó dipolar de las moléculas del agua.

Hemos visto como es posible analizar mediante la representación de circuitos eléctricos equivalentes, la respuesta a la frecuencia de un material biológico. Actualmente, a diferencia de hace veinte años, los avances tecnológicos permiten desarrollar mediciones más precisas de los parámetros eléctricos y simulaciones matemáticas.

De esta representación en el plano complejo de la ley de Ohm, puede obtenerse el valor de la impedancia eléctrica en la amplitud y fase. Realizando un barrido en frecuencia da como resultado el espectro característico de la muestra. Los espectros obtenidos se caracterizan mediante patrones de circuito eléctrico equivalente que modelan el comportamiento eléctrico de las muestras de tejido analizado.

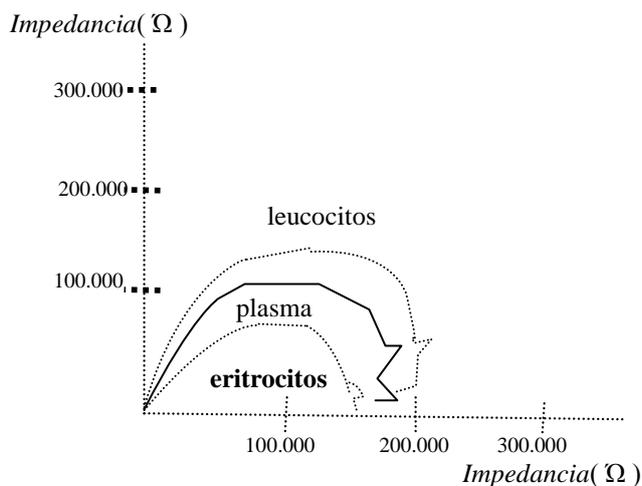
2- Conductividad sangre y reacomodo celular.

Podemos medir la conductividad de la sangre como conjunto de plasma, eritrocitos y leucocitos pero cada componente posee diferentes frecuencias de excitación.

Los glóbulos rojos poseen carga eléctrica en su membrana que aporta un factor adicional en la energía almacenada por unidad de volumen. También podemos simular su impedancia mediante un circuito eléctrico como los anteriores donde el comportamiento de la (R_p) del circuito equivalente caracterizará a estos glóbulos rojos del resto de la sangre.

En cambio veremos como la resistencia en serie (R_s) es provocada por la interacción en la interfase electrodo-muestra de sangre, así que con este parámetro es posible diferenciar los glóbulos blancos del resto de células de la sangre. Ya que los leucocitos son las células más grandes de la sangre y presentan un núcleo grande y tiene poco citoplasma, a diferencia de los eritrocitos que poseen una estructura en disco.

En la siguiente figura mostramos los espectros de impedancia de los componentes principales de la sangre.



Esta figura nos indica los diagramas de Cole-cole, que muestran los espectros de impedancia de los componentes principales de la sangre. Donde podemos apreciar que la impedancia a bajas frecuencias es más alta para leucocitos que para eritrocitos, quedando el plasma en una impedancia intermedia. Para altas frecuencias la impedancia de cada componente tiende a cero.

Figura 30 diagramas de Cole-cole

El plasma está formado principalmente por iones y moléculas proteicas en solución acuosa tiene la apariencia a un electrolito con partículas en suspensión. Antes de ver la gráfica anterior pensábamos que los leucocitos presentarían mayor resistencia en paralelo, también esperábamos una mejor respuesta capacitiva en base a su estructura cuasi-esférica. Los eritrocitos tienen mayor conductividad (menor resistencia en paralelo) y tienen mayor dispersión en el valor del parámetro C_p .

Una cosa muy interesante de los espectros de frecuencia de la figura anterior son las perturbaciones encontradas para bajas frecuencias para los leucocitos y para el plasma. Pensamos que estas pequeñas perturbaciones a bajas frecuencias pudieran darnos una pista del espectro de frecuencia que necesitamos para nuestro ensayo.

Para poder continuar con la elección de todos los parámetros eléctricos, tendremos que tener en cuenta algunos hechos electrofisiológicos:

Todo sistema sometido a un campo eléctrico en los primeros instantes tiende a un reacomodo de carga para minimizar los caminos de transferencia entre los electrodos.

Tras la alteración celular que sigue al estímulo eléctrico, se produce un intervalo de reposo, denominado período refractario, en el cual la célula no responde a nuevos estímulos.

Para poder permitir incluso la repolarización de la célula, y así permitir una nueva alteración, es preciso interrumpir el paso de la corriente durante un determinado tiempo, más o menos prolongado, según el efecto que se desee conseguir. En la aplicación con corriente alterna, la interrupción al paso de la corriente no se produce, está constantemente sometida a un movimiento oscilatorio, que abarca desde el valor cero de la intensidad hasta el máximo valor de ésta.

Asimismo, debemos tener en cuenta que la duración del estímulo y del reposo depende del estado funcional y de la estructura de la célula. Por otro lado, es sabido que para cada clase de célula existe una frecuencia determinada, en la que reacciona con más facilidad.

El espectro biológico se sitúa en la baja frecuencia (0-100 Hz/s). Si la sucesión de los impulsos estimulantes es muy rápida, no da tiempo a la recuperación celular y podría anularse la respuesta. Ello sucede cuando empleamos corrientes de frecuencias medias e intensidad constante. Ahora bien, si variamos su intensidad en la gama de baja frecuencia, damos tiempo a que la membrana celular pueda repolarizarse (valores de intensidad por debajo del umbral de excitabilidad) y responder de nuevo.

Existen también estimuladores que trabajan con medias frecuencias (4.000 Hz) para conseguir frecuencias bajas en la zona que queremos alcanzar.

El empleo de microcorrientes de baja frecuencia para actuar en profundidad, se consigue mediante la aplicación del electrodo en los puntos de baja impedancia estudiados más adelante en esta tesis, sin necesidad de aumentar la frecuencia. Aunque en este apartado también son analizados otros métodos que utilizan medias frecuencias como los Interferenciales.

Aparte de los efectos fisiológicos locales comentados existen otros efectos generales como el efecto de acomodación, el cual se produce cuando la sensación que percibe el paciente, al ser sometido a estimulación con una determinada corriente, a medida que pasa el tiempo se va perdiendo, hasta llegar, incluso, a desaparecer. Ello se debe a que los receptores estimulados pasan información sobre los cambios externos en un grado cada vez menor.

Para evitar la acomodación, podemos aumentar la intensidad o variar la frecuencia.

- a) Tratar de evitar el efecto de acomodación variando la intensidad nos lleva a que, cada vez que el paciente note una atenuación en la sensación recibida, hemos de incrementar la intensidad hasta percibir de nuevo una sensación similar a la del comienzo. Ello, además de resultar incómodo para el ensayo, podría suponer un riesgo para el paciente, dado que, al terminar la última sesión del tratamiento, estaría recibiendo intensidades altas, lo que se traduciría en dolores musculares y fatiga muscular.
- b) Variar la frecuencia es el mecanismo al que habitualmente se recurre para evitar la acomodación, donde esta variación de frecuencia se denomina «espectro de frecuencia».

El espectro de frecuencia se interpreta como una gama de frecuencias de tratamiento, todas ellas automáticas, rítmicamente modificadas y dentro del rango de las bajas frecuencias.

Independientemente del tipo de estimulador que elijamos trataremos de realizar un barrido de frecuencias, siempre en el rango de las bajas frecuencias. Según las diferentes características de los aparatos, este barrido de frecuencias va a realizarse en unidades de tiempo programadas previamente, de una forma más o menos brusca, y que denominamos oscilación del espectro.

La forma más efectiva de evitar la acomodación es utilizando un espectro amplio, de gran duración, que da tiempo a apreciar las variaciones de las frecuencias.

3- Evaluación equipamiento disponible en el mercado para nuestras necesidades

3.1-Descripción diferentes modos de estimulación, técnica interferencial.

En general, se pueden establecer dos grandes categorías dentro del uso de la estimulación eléctrica. Así, se distingue la estimulación eléctrica funcional (denominada FES) y la estimulación eléctrica terapéutica (denominada TES o TEAS). La estimulación eléctrica funcional consiste en la aplicación de un estímulo eléctrico a músculos o nervios intactos para originar una contracción muscular que, posteriormente es incorporada a una actividad diaria (movimiento del brazo, mano, piernas, control de órganos ...).

Nosotros necesitamos un estimulador cuyo principal objetivo sea poder alcanzar los reservorios y aumentar consiguientemente el ATP en la preintegración de la latencia. Hemos elegido la estimulación eléctrica terapéutica, que a diferencia de la funcional, consiste en la aplicación de un estímulo eléctrico mientras el individuo descansa y su principal objetivo es el entrenamiento o la mejora de la funcionalidad del elemento que se encuentra mal comunicado o cortocircuitado. Esta técnica produce un incremento del flujo de sangre sobre el área y suele aplicarse junto con otras terapias. A su vez, en función del lugar de la aplicación del estímulo, se pueden distinguir la estimulación neural (aplicada transcutáneamente sobre nervio) y la estimulación con el electrodo implantado (aplicada directamente sobre el órgano). En ambos casos, los estimuladores diferirán en los parámetros de estimulación necesarios.

Dentro de la estimulación eléctrica funcional (FES) es posible realizar una clasificación atendiendo a las prestaciones que nos proporciona el estimulador. Dado el amplio campo de aplicación que hoy en día tiene la estimulación eléctrica, es muy elevado su uso y se pueden citar, entre otros: el desarrollo del marcapasos, sistemas de respiración asistida, desarrollo de implantes cocleares, sistemas para el control de la vejiga, desarrollo de implantes visuales, sistemas de rehabilitación de pacientes con apoplejía, múltiple esclerosis y lesiones medulares (sistemas para el control de la movilidad de brazos y piernas, control de vejiga e intestino).

Otro posible modo de estimulación son las corrientes de alta frecuencia (corrientes interferenciales) El modo de producción de estas corrientes inicialmente fue con dos generadores de corrientes farádicas senoidales a 4.000Hz de frecuencia. Dejando el primer circuito con frecuencia fija de 4.000 Hz, que aplicó con dos electrodos de placa como si de una aplicación bipolar normal se tratase, y situando un segundo circuito de forma perpendicular y cruzada con el anterior, con un generador independiente, de forma que su frecuencia pudiera variarse 4.000 y 4.100 Hz. De esta forma se obtiene, en la zona donde se produce el cruce de los circuitos, una corriente modulada cuya frecuencia oscilaba entre 0 y 100 Hz, equivalente a la diferencia de las frecuencias de las dos corrientes iniciales; con efectos muy parecidos a los producidos por las corrientes de baja frecuencia. A esta corriente la denominó corriente interferencial; su intensidad, al contrario de las corrientes individuales aplicadas, varía rítmicamente.

La técnica de la interferencia consiste en:

- a) La aplicación de forma simultánea de dos corrientes de frecuencia media, cuyas intensidades son constantes y sus frecuencias diferentes.
- b) Su cruce o superposición en el interior del cuerpo.
- c) La aparición de una nueva corriente modulada de baja frecuencia y de intensidad variable.

Si efectuamos la combinación entre dos circuitos de corrientes alternas de mediana frecuencia, independientes entre sí y que difieran uno de otro en 250 Hz, lograremos en la zona de interferencia una corriente ondulante de baja frecuencia. La frecuencia de la nueva corriente modulada obtenida tras la interferencia de los dos circuitos, frecuencia de interferencia, puede calcularse mediante la fórmula:

$$f = \frac{f1 + f2}{2}$$

siendo.

f = frecuencia resultante.
 $f1$ = frecuencia circuito 1.
 $f2$ = frecuencia circuito 2.

La frecuencia con que varía la amplitud se designa como frecuencia de modulación de la amplitud de estímulo y equivale a la frecuencia de tratamiento.

La referimos utilizando la terminología inglesa AMF. La AMF tiene un valor que se calcula de la siguiente manera:

$$AMF = f2 - f1$$

Las corrientes alternas de frecuencia media tienen la capacidad de acoplarse ante la resistencia de la piel, lo que nos permite la utilización de intensidades más elevadas que las empleadas con las corrientes continuas a impulsos y con las corrientes galvánicas de baja frecuencia, sin que se produzca sensación dolorosa en el paciente.

Cuando hacemos interaccionar dos corrientes alternas de frecuencia media, se produce en la zona de cruce un aumento o disminución de la intensidad y, consecuentemente, de la amplitud de las ondas, «modulación de la amplitud»; por ello, cuando estos valores están por debajo del umbral excitomotor, consideramos, a efectos de analogía con las corrientes pulsadas, que se ha interrumpido la corriente, y volverá a producirse otro estímulo cuando la corriente tome de nuevo el valor umbral de intensidad necesario. De este modo, conseguimos, mediante la aplicación de dos corrientes de frecuencia media e intensidad constante, evitar en la zona de la piel los efectos no deseados de las corrientes de baja frecuencia continuas, pulsadas, monopolares o galvánicas (galvanoiónicos); al mismo tiempo podríamos lograr los efectos beneficiosos de dichas corrientes en profundidad.

Las características principales de este modo de estimulación son:

Intensidad relativamente baja.

Frecuencia relativamente alta.

Frecuencia de modulación de amplitud (AMF), que determina la frecuencia con la cual alcanzaríamos nuestro objetivo, esta vez situada dentro del espectro biológico.

Las técnicas de aplicación de las corrientes interferenciales suelen clasificarse en:

Método tetrapolar.

Usamos cuatro polos. El aparato suministra, mediante circuitos separados, dos corrientes alternas de frecuencia media no moduladas. Cuando las dos corrientes se cruzan en el interior del cuerpo es cuando, en el área de cruce, se produce la interferencia; consecuentemente, el efecto de modulación de intensidad tiene lugar en esta zona y en cada uno de los cuadrantes que delimitan dos electrodos de circuitos distintos. Las distancias y ángulos en la colocación de los electrodos es fundamental para conseguir una profundidad de modulación y una intensidad adecuada en la zona que hay que alcanzar.

Método bipolar.

Se utilizan dos polos. Se caracteriza porque la interferencia se produce, a diferencia del método tetrapolar, en el interior del aparato, por lo que la corriente que sale por los polos está ya modulada, este método sería más sencillo de aplicación para nosotros, ya que la superposición se consigue sea cual fuere la posición de los electrodos.

Las corrientes interferenciales, por sus efectos analgésicos y estimulantes, se utilizan en el tratamiento de procesos dolorosos (agudos o crónicos) y en aquéllos en los que queramos mejorar la potencia muscular, por déficit o porque queramos fortalecer la musculatura. Asimismo, por su acción de amasamiento muscular, se utilizan en los casos de contracturas musculares.

Los parámetros a tener en cuenta son:

- a) Elección de la frecuencia portadora.
- b) Elección de la AMF o frecuencia de tratamiento.
- c) Elección del espectro de frecuencia.
- d) Elección de la oscilación del espectro.

a) Elección de la frecuencia portadora

En los manuales de este tipo de estimuladores suelen elegir como corriente portadora una corriente de frecuencia media de 4.000 Hz. y obtienen efectos analgésicos así como mejoran la microcirculación. Aunque si se utilizan corrientes de frecuencias entre 2.000 y 2.500 Hz, consiguen fortalecimiento muscular.

b) Elección de la AMF o frecuencia de tratamiento.

Como hemos visto en el apartado anterior, necesitamos movernos por debajo de 50 Hz. Que es la frecuencia de espectro biológico.

c) Elección del espectro de frecuencia

El espectro de frecuencia viene dado por la gama de frecuencias que recorre la corriente interferencial final. La indicaciones de los fabricantes para este tipo de estimuladores son unos espectros amplios superpuestos a AMF baja y otros estrechos superpuestos a AMF alta, si bien con estos se produce con más facilidad el fenómeno de acomodación antes mencionado. Ahora bien, entre ambos extremos existe una amplitud de gamas, que podemos aprovechar para probar.

d) Elección de la oscilación del espectro

El recorrido de la corriente interferencial por la gama de frecuencia que hemos seleccionado en el espectro de frecuencia puede programarse con diferente tiempo de duración. Cuando éste es largo, evitamos que se produzca el fenómeno de acomodación. Por el contrario, cuando la oscilación del espectro es de corta duración, no da tiempo de percibir la variación de frecuencia y puede presentarse la acomodación.

Uno de los mayores condicionantes en la elección del tipo de estimulador empleado ha sido:

Que el tratamiento tiene obligatoriamente que ser percibido por el paciente de forma agradable», el criterio determinante de la dosis será la sensibilidad del paciente, el cual no deberá percibir en ningún caso sensación de escozor, quemazón o cualquier otra sensación. Por lo tanto, lo que percibe el paciente es lo primero que hay que tener en cuenta. Éste no puede llegar a percibir dicha sensación como dosis mínima.

Esta dosis mínima no hay ninguna duda que será mediante las microcorrientes de muy baja frecuencia. También habrá de tenerse en cuenta que, según el estado de la piel del paciente (sequedad, espesor, vello, inervación, erosiones, cicatrices), pueden percibirse sensaciones diferentes. Por lo tanto si elegimos estas microcorrientes de baja frecuencia de estimulación eléctrica terapéutica (denominada TES o TEAS), estaremos seguros que van a ser totalmente imperceptibles, ya que están muy por debajo del umbral de percepción. No tendremos tampoco que preocuparnos por efecto de la acomodación, los pacientes no experimentarán una disminución en la percepción de la corriente.

3.2.- Estructura eléctrica generalidades (corrientes, pulsos, frecuencias, etc)

Todos los estimuladores usados se pueden clasificar en dos grupos según el tipo de corriente, los estimuladores de corriente directa y los estimuladores de corriente pulsátil. En nuestro caso elegiremos corriente pulsátil o pulsada. También otra característica fundamental es si mantenemos fijo el voltaje en la salida de los electrodos, esto significa que se reduce automáticamente la intensidad al reducir el tamaño de los electrodos. Pero hay un riesgo ya que podemos aumentar la intensidad y producir daño. Otra opción es elegir un estimulador de intensidad constante en el cual minimizamos el riesgo anterior, variando el voltaje de salida del electrodo según la impedancia de la piel pero el inconveniente lo tenemos cuando variamos el diámetro del electrodo, ya que no se ajusta la intensidad automáticamente.

Si representamos la intensidad en función del tiempo, tenemos la corriente directa o la corriente directa invertida.

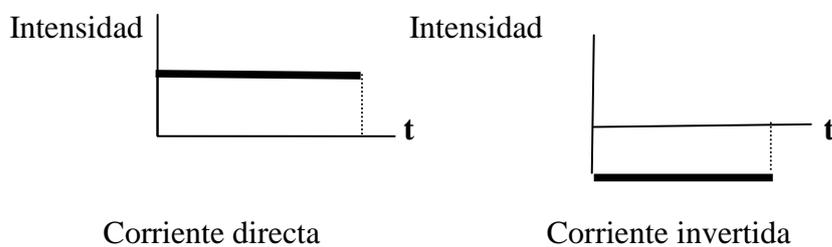


Figura 31

Si el flujo de la corriente se interrumpe un tiempo determinado, tenemos la corriente directa interrumpida.

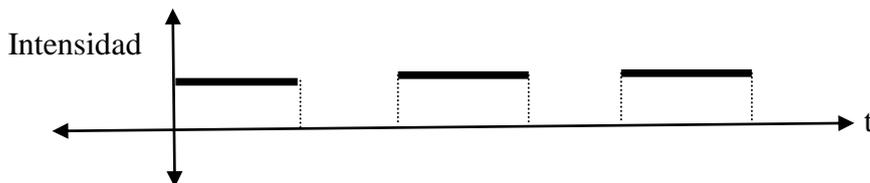


Figura 32

Para realizar el periodo de estimulación más agradable al enfermo, se puede realizar una disminución o aumento de la intensidad gradualmente, lo que se conoce como corriente directa en rampa.

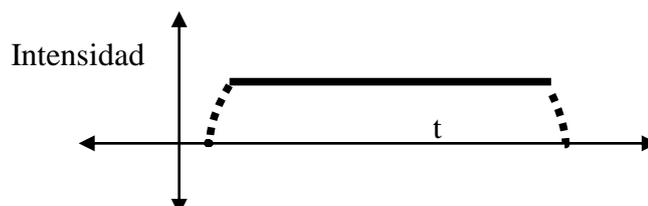


Figura 33

Las corrientes directas que hemos visto pueden dar lugar a pulsos con una forma de onda que podemos elegir, podemos elegir también la pendiente de la rampa, la duración del pulso, el periodo off, las frecuencias, las amplitudes etc. Todos estos parámetros pueden ser modificados mediante el display del estimulador ó pueden venir dentro de un programa de selección

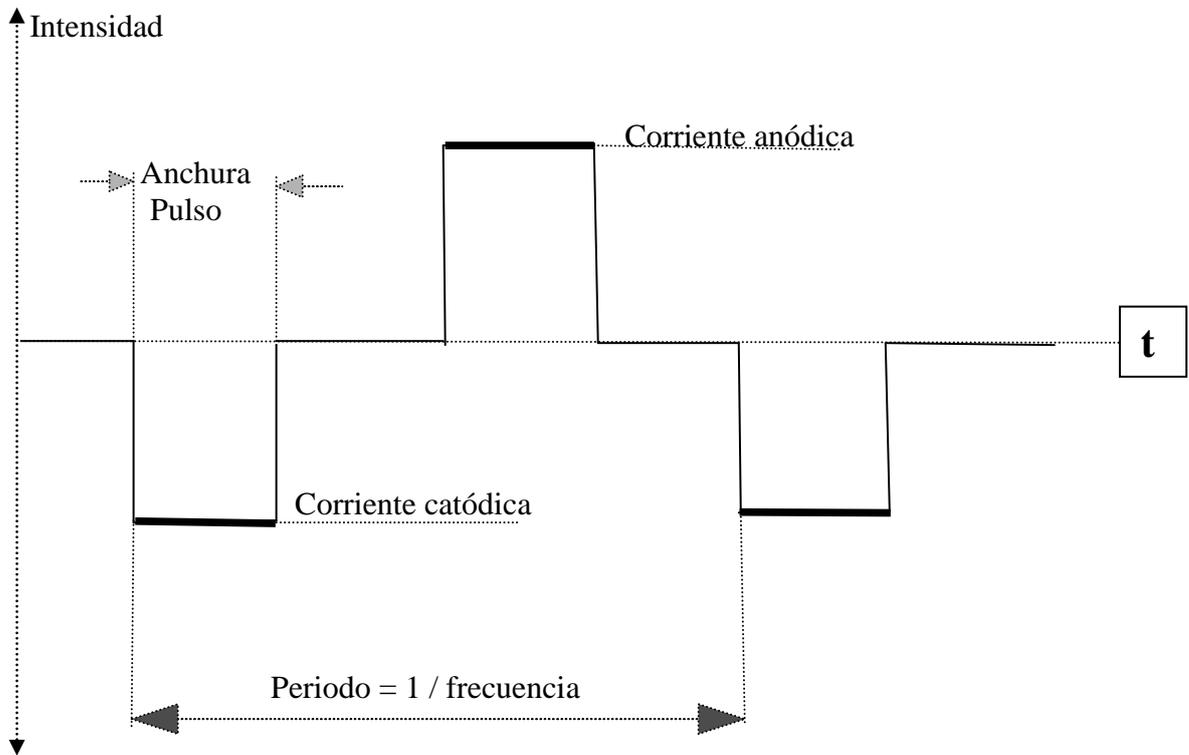


Figura 34- Ejemplo de pulso tipo.

Dentro de la corriente que vamos a utilizar (corriente pulsátil) según sea la onda pueden ser monofásica, bifásica, simétricas y según sea la forma de la onda serán cuadrados, triangulares etc.

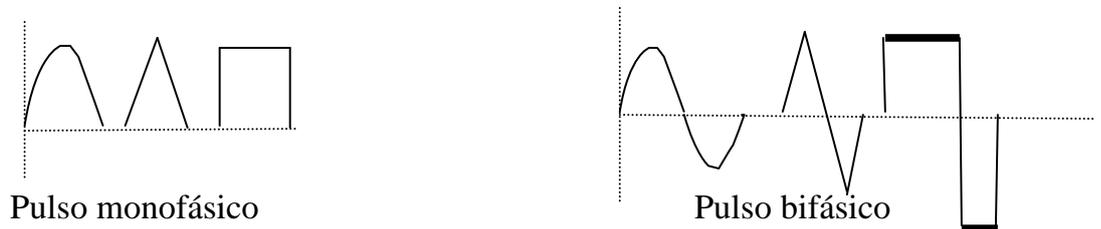


Figura 35- Ejemplo de formas de onda

En un pulso bifásico cada pulso contiene dos fases, presentándose entonces las dos polaridades, pueden ser simétricos y asimétricos. La corriente que emplea estos pulsos se llama difásica y se suele emplear cuando se inicia el tratamiento.

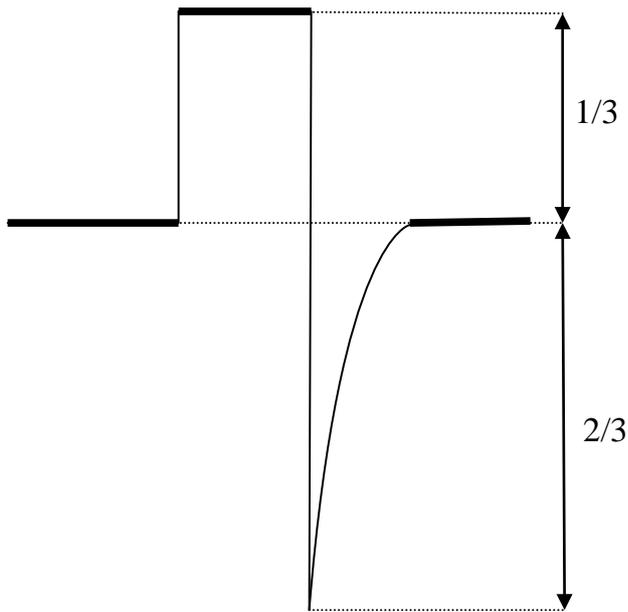
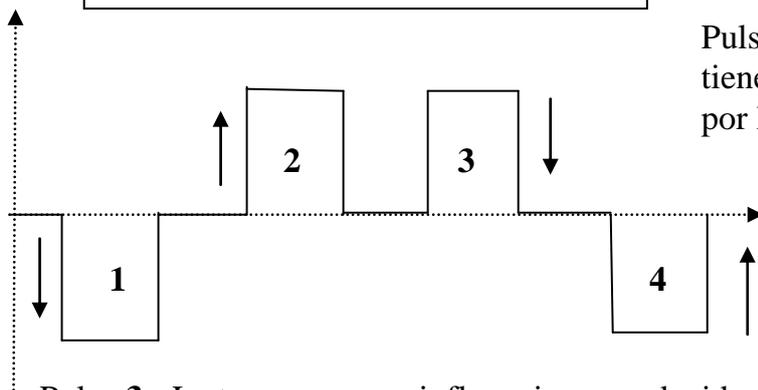


Figura 36- Ejemplo de formas de onda

El pulso de la figura anexa es un pulso bipolar muy utilizado debido a que experimenta un cambio abrupto. Pero es muy importante mantener las relaciones de magnitud que se expresan. Aunque su amplitud y frecuencias sean variables.

Este cambio abrupto nos viene dado por la ley de Pflüger, la cual nos describe la influencia de la dirección de la corriente, o más exacto, la influencia de la dirección del impulso del gradiente de potencial a través de la membrana.

La siguiente figura representa un ejemplo de esto.



Pulso 1- La mayor influencia que tiene la dirección de la corriente es por la caída de un pulso negativo.

Pulso 2- La segunda mayor influencia es producida por la subida del pulso positivo.

Pulso 3 - La tercera mayor influencia es producida por la caída del pulso positivo.
 Pulso 4- El cuarto mayor efecto es producido por la subida del pulso negativo.

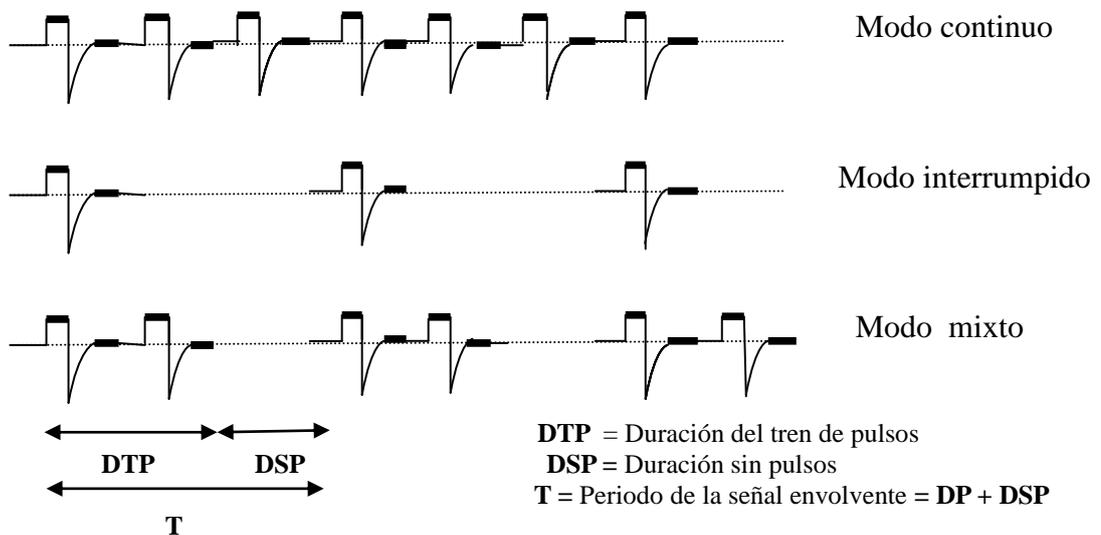


Figura 37- Modos de estimulación

En la figura anterior vemos que en la modalidad continua, la corriente de estimulación no cambia su frecuencia, este término continua solo hace referencia a que la frecuencia permanece fija durante todo el tratamiento. No tenemos que confundirlo con la corriente continua (también llamada galvánica) que se refiere a una corriente sin frecuencia y a una intensidad que se mantiene constante en el tiempo.

Aparte de la frecuencia de cada pulso, existe una frecuencia de los trenes de pulsos, como hemos visto en la figura anterior en el modo mixto. Los trenes pueden contener varios pulsos, esta frecuencia es conocida como frecuencia envolvente o frecuencia del burst y se calcula también como el inverso del periodo. Donde T es el periodo de la señal envolvente y se obtiene como hemos visto $T = DP + DSP$, donde DTP es la duración del tren de pulsos también conocida como duración burst y DSP duración sin pulsos.

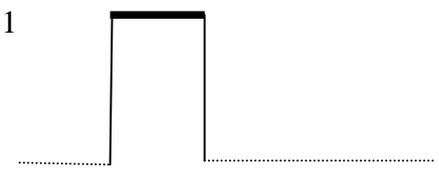
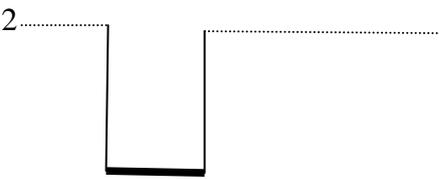
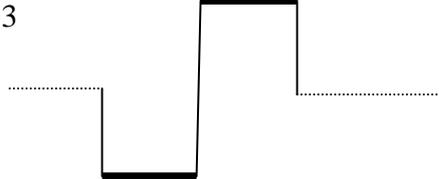
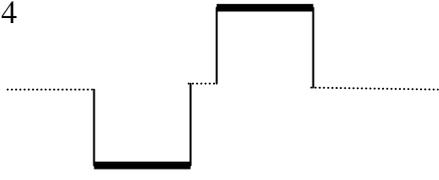
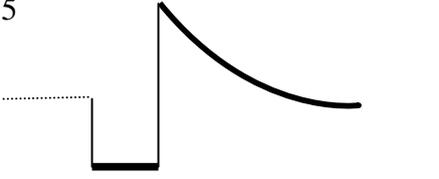
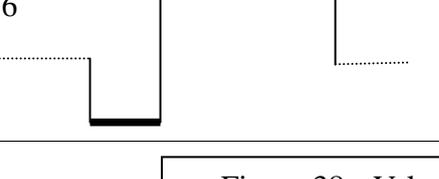
Valoración de pulsos más usados	Sensibilidad Umbral	Fenómenos polares	Daño tejido	
1 	X	X	X	
2 	XXXXXX	XXXXXX	XX	
3 	XXX	XXXXXX	XXXXXX	
4 	XXXXXX	XXXX	XXX	
5 	XX	XXX	XXXXXX	<u>Valoración</u> XXXXXX Muy bueno
6 	XXXX	XX	XXXX	X Muy malo

Figura 38- Valoración de los pulsos más interesantes para nosotros.

El pulso monofásico catódico (1) de la figura anterior se comporta peor en la activación de células que el monofásico anódico (2) . Las señales de estimulación bifásicas simétricas (3) y (4) ofrecen una buena alternativa para actuar como señales de activación de células.[63][Grill 2006]

Los fenómenos polares que causan corrosión en el electrodo, pueden causar disolución de metal e incluso daño en el tejido, este fenómeno solo se presenta durante la fase anódica de la estimulación. En la mayoría de aplicaciones, la estimulación catódica tiene un umbral más bajo que la anódica, por lo tanto podría parecer que las formas de onda catódicas monofásicas son las preferidas para estimular gracias a que minimizan la corriente a ser aplicada y la corrosión. Sin embargo, dado que la corriente solo fluye en una dirección, las reacciones químicas que ocurren en la interfaz electrodo-piel no pueden ser revertidas. Para evitar esto se utilizan ondas bifásicas simétricas o asimétricas como señal de estimulación, en este tipo de ondas la carga esta siempre compensada evitando reacciones electroquímicas de riesgo potencial [64][Durand, 2006].

El pulso bifásico (3) de la figura anterior, muestra que una onda cuadrada bifásica simétrica con la primera fase catódica, es una de las mejores opciones para estimular. La intensidad de corriente necesaria para producir activación celular debe ser un poco mayor a otros tipos de onda, por ejemplo, la onda monofásica catódica necesita un nivel mucho menor de corriente para para producir activación celular [Durand, 2006]. Sin embargo, las ondas cuadradas bifásicas simétricas tienen un nivel de corrosión y daño al tejido fisiológico muy bajo y por lo tanto óptimo para estimular una zona durante un tiempo prolongado. Estos tipos de onda son las que hemos elegido para ser aplicada por nuestro estimulador.

En las siguientes figuras tenemos unas de las formas de onda obtenidas en el equipo elegido, muestran las imágenes tomadas directamente del osciloscopio a la salida de un canal con respecto al electrodo de referencia .

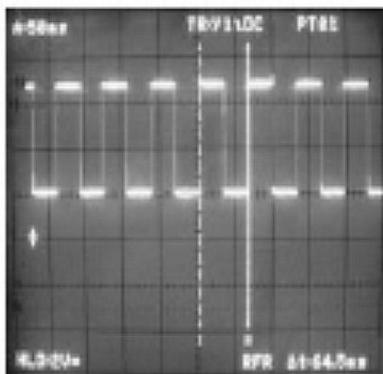


Figura 39
frecuencia 15,5 Hz

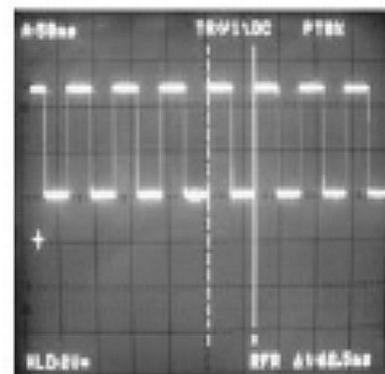


Figura 40
frecuencia 16 Hz

De los diferentes modos de estimulación que hemos visto en el capítulo anterior. El modo TENS/TEAS utiliza una corriente de baja frecuencia si se compara con el espectro de frecuencias eléctricas disponibles de los otros modos. En la mayoría de los casos el modo TENS/TEAS funciona mediante una corriente alterna, caracterizada por una duración e intervalo de fase ajustables, así que también se puede variar la frecuencia. La duración de fase suele ser muy breve, variando entre 10 y 250 μ seg.

La amplitud de corriente es un valor que puede regularse entre 1 y 80 mA con una impedancia del electrodo de 1 K. Ω . Cuando utilizamos la modalidad TENS/TEAS, la amplitud debe mantenerse justo por debajo del límite del dolor.

Normalmente existe dentro del TENS/TEAS una modalidad de "ráfaga", que consiste en aumentar la amplitud hasta que se aprecien contracciones musculares fuertes y visibles

La forma de onda más común es una onda cuadrada, equilibrada, asimétrica y bifásica con valor medio igual a cero del componente neto de corriente directa.

El área debajo de la onda positiva es igual al área debajo de la onda negativa. No se producen efectos polares netos, evitando la acumulación a largo plazo de concentraciones de iones positivos - negativos debajo de cada electrodo, o dentro del tejido. Por consiguiente, no hay reacciones dermatológicas adversas debido a concentraciones polares.

Para que un estímulo sea eficaz tiene que llegar a cierta intensidad, ser de cierta duración y alcanzar la intensidad máxima a cierta velocidad mínima. Es la relación de la amplitud con la duración de fase lo que determinará un estímulo adecuado.

Duraciones de fase cortas requieren amplitudes altas para producir estímulos adecuados, mientras que duraciones de fase largas requieren amplitudes más bajas para producir estímulos adecuados.

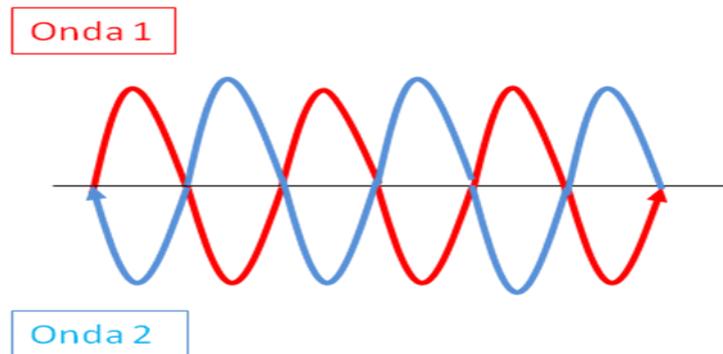
Si se aumenta la duración de fase, se aumenta la energía dentro de la pulsación por medio de un incremento en el área de superficie a lo largo del eje horizontal.

En una forma de onda bifásica, la porción positiva de la onda se omite en un electrodo de un sistema de dos electrodos (de un canal) y una porción negativa se omite en el otro. Aunque se produce una corriente directa con valor medio igual a cero, un electrodo puede ser más activo.

Si se aumenta la amplitud, el potencial de la forma de onda se aumenta en ambas formas de onda, pero de distinta manera; en la porción de onda negativa se aumenta el eje vertical, pero en la porción de onda positiva, se aumenta el eje horizontal. Esto tiende a hacer que el electrodo en la porción de onda negativa sea más activo, aunque no de una manera significativa hemos encontrado en la mayoría de los aparatos disponibles.

Debido a la naturaleza ondulatoria de los campos eléctricos pueden darse diversas circunstancias de interacciones entre ellos.

Puede darse el caso, que dos ondas se cancelen la una a la otra.



La onda resultante será nula

Fig. 41 - Resultante nula, procedente de la interacción entre las ondas 1 y onda 2

Otro caso que se puede dar, es el siguiente en el que las dos ondas se refuerzan una a la otra

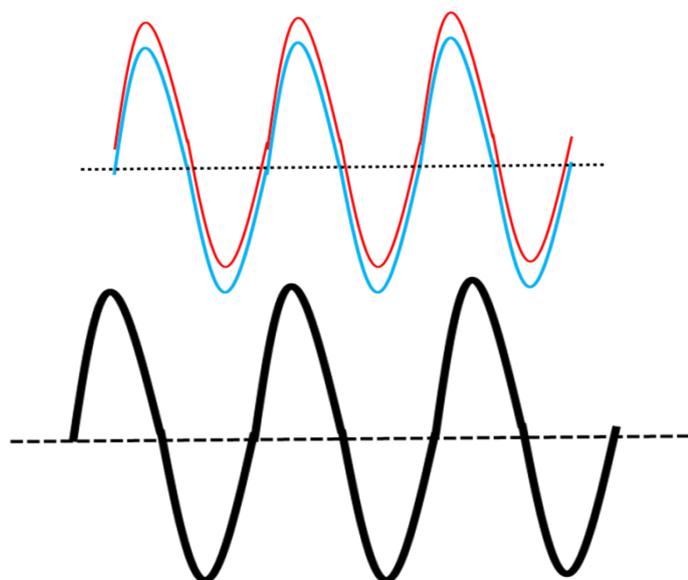


Fig. 42 - Resultante aumentada, procedente de la interacción entre las ondas 1 y onda 2

Conviene también tener en cuenta, el flujo de las líneas de campo eléctrico, en la siguiente figura se representa esto.

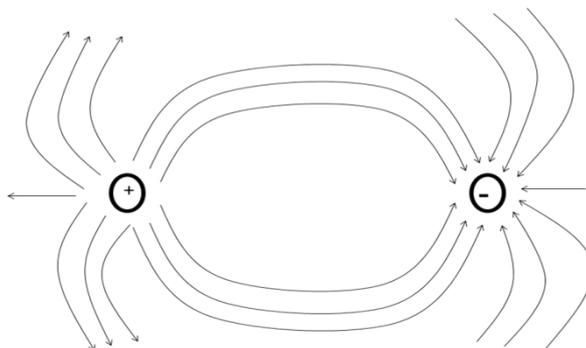


Fig. 43

Las líneas de fuerza de un campo eléctrico, cuando son cargas de distinto signo

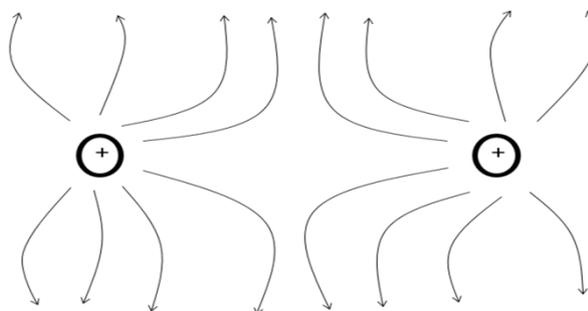


Fig. 44

Líneas de fuerza de un campo eléctrico, para el caso de cargas del mismo signo

3.3- Las técnicas TENS/TEAS.

1. La TENS Convencional (TENS de frecuencia alta y amplitud baja) con una frecuencia relativamente alta entre los 80 y 120 Hz.
2. La TEAS de frecuencia baja y amplitud alta (TENS de tipo acupuntura) con una frecuencia baja «10 Hz).
3. La TEAS también utiliza otras frecuencias (TENS por trenes de impulsos) y formas de corrientes, la frecuencia de pulsos es variable en todos los aparatos, y la gama de variación de los parámetros varía, siendo como media de 1 - 150 pulsaciones por segundo o hertzio (Hz). Este pensamos que es el modo que necesitamos.

Encontramos distintos tipos de corriente de frecuencia modulada en algunos aparatos pueden verse la estimulación a "ráfaga" y estimulación de frecuencia modulada .

Han llevado al uso de una modulación de frecuencia especial dentro de la terapia TENS. Esta modulación es una modificación de la TENS de tipo acupuntura. Este "TENS por ráfagas" consiste en un tren de impulsos ("ráfaga") de 2 Hz. Cada tren de impulsos dura 70 mseg, siendo la frecuencia base de la corriente de 100 Hz, con lo cual cada ráfaga contendrá 7 impulsos.

En la aplicación de microcorrientes hemos comentado antes el fenómeno de la acomodación que quiere decir que si el empleo de la TENS/TEAS tiene éxito a principio pero luego deja de surtir efecto, se debe probar el modo de ráfaga para superar este fenómeno de adaptación y acomodación.

Nosotros también utilizaremos las frecuencias de trenes, en los estudios publicados, aparte de la frecuencia de trenes de 2 Hz también se habla de frecuencias de trenes de 1 a 5 Hz. Aunque no es el único motivo para preferir utilizar una frecuencia alta para la aplicación de trenes de impulsos; con una frecuencia baja es posible que el tren no contenga impulsos, dando como resultado un modelo de estimulación irregular.

Hay equipos TENS/TEAS de un canal con solo un parámetro de amplitud única y un par de electrodos. En un equipo de dos canales, aparte de tener dos canales de salida por lo que permiten dos pares de electrodos, permiten también dos parámetros de amplitud variables. También hay equipos en el mercado con frecuencia variable y de ráfaga. Algunos modelos tienen autoescáner para la frecuencia y amplitud de pulsaciones.

La principal utilidad de estos equipos TENS/TEAS, es poder modular la señal de dolor de los trazados electrofisiológicos normales produciendo un alivio del mismo, esta utilidad no la estamos buscando en nuestro ensayo.

Vamos a comentar los parámetros fundamentales de los TENS/TEAS.

Frecuencia

La frecuencia es medida en hercios (Hz) y se refiere a los números de pulsos repartidos por segundo en una corriente pulsada o el número de ciclos por segundo de una corriente alterna, ejemplo (frecuencia de 100Hz en una corriente pulsada significa que 100 pulsos son repartidos por el estimulador en un segundo. Hay algunos fabricantes que a menudo etiquetan el dial de la frecuencia como “rate”

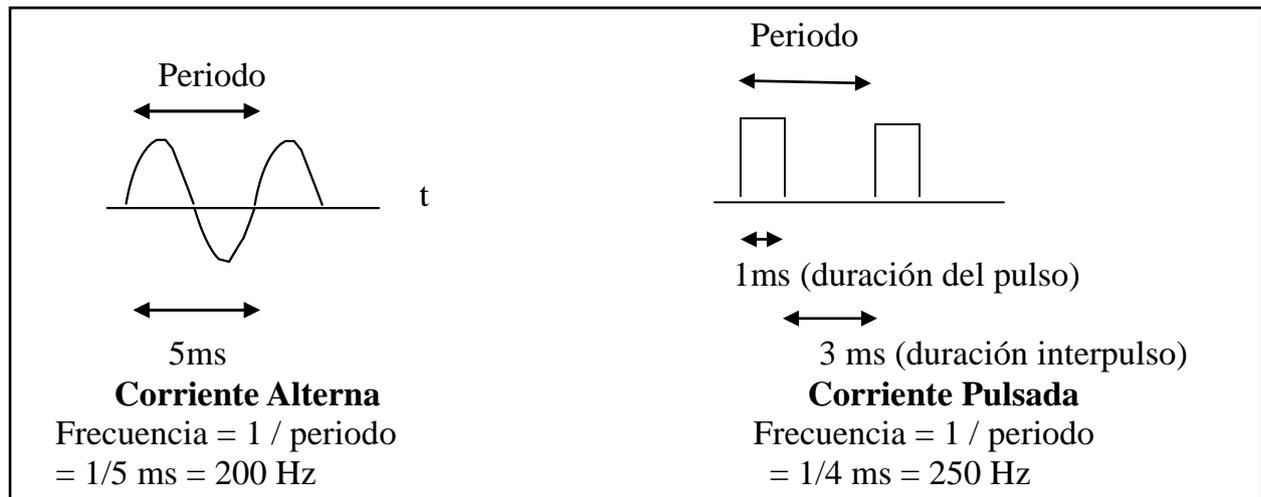


Figura 45- Cálculo de la frecuencia para una corriente pulsada y para una corriente alterna.

Duración del pulso

La duración del pulso tiene la dependencia característica del tiempo y a menudo es conocido como ancho de pulso. Su unidad viene expresada normalmente en milisegundos (ms) o en microsegundos (μs). Normalmente se tiende a conocer la duración del pulso como una duración solo positiva (depolarización) de la componente de la forma de onda. Sin embargo nosotros consideramos la duración de la dos fases en una forma de onda (la suma de la duración de las fases positiva y negativa).

Duty cycle

Es la relación existente entre el tiempo de la duración del pulso y el total del tiempo (tiempo on + tiempo off) y se expresa en porcentaje. Por ejemplo, si una corriente tiene un tiempo(on) de 5ms y un tiempo (off) de 10 ms, entonces el duty cycle es 33%.

Amplitud / intensidad

Los estimuladores pueden dar a la salida corriente constante o voltaje constante. Lo que significa que en esta salida, el voltaje o la corriente variarán para mantener constante la amplitud (dentro de unos límites) de la corriente o el voltaje, a medida que la impedancia (resistencia) del sistema electrodo-paciente cambia.

Esta amplitud (conocida como intensidad) para una salida de corriente constante viene dada en mA. y la amplitud a la salida de voltaje constante es medida en voltios. La corriente es como el caudal de la carga eléctrica y el voltaje es la fuerza electromotriz requerida para mover esta carga eléctrica. Para depolarizar la membrana de una fibra nerviosa es más importante el nivel de la corriente que el del voltaje.

La ley de Ohm nos describe esta relación $V = I \times R$, donde V es el voltaje necesario para mover una carga eléctrica a través de una resistencia que se opone al movimiento de la carga eléctrica.

Cuando una corriente eléctrica es aplicada a la piel, requerirá de una fuerza electromotriz, ya que encontraremos una impedancia en el sistema electrodo-paciente. Esta fuerza electromotriz es suministrada por la batería o fuente de alimentación.

La amplitud de pico es el valor máximo de amplitud de una fase. La amplitud pico a pico es la amplitud medida desde el pico de una fase al pico de la segunda fase

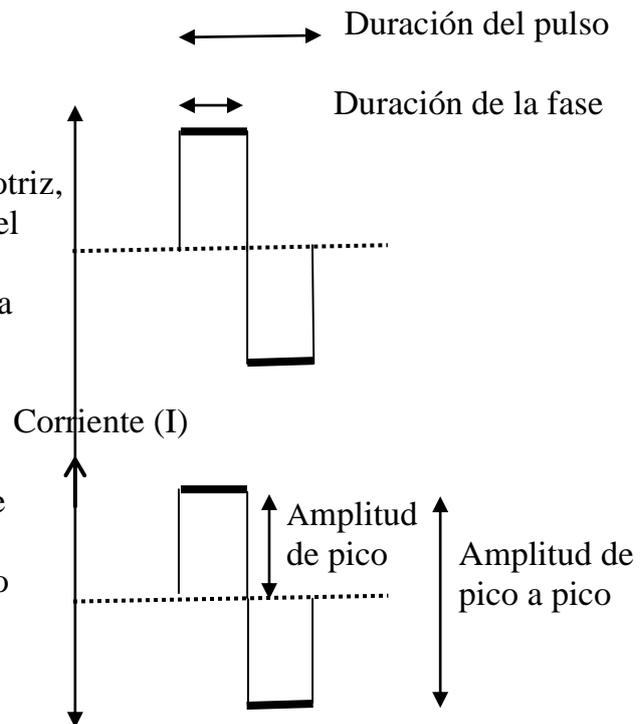


Figura 46- Ejemplo amplitud de intensidad

Duración y forma del pulso.

Normalmente para que desaparezca dolor se escoge una duración del pulso bifásico asimétrico para el comienzo del tratamiento de 60 a 150 μ .seg (de 0,06 m.sec a 0,15 mseg.). Nunca se debe sobrepasar duraciones de fase superiores a 0,2 m.sec o 200 μ .seg, la forma del pulso es completamente rectangular, sin líneas oblicuas, lo que garantiza su eficacia. La superficie de la fase de estimulación es igual a la de la fase de compensación. Si la fase de compensación no es suficientemente amplia, no se producen efectos galvánicos.

Modulación de la frecuencia (Espectro).

La utilización del espectro con la TENS/TEAS de alta frecuencia y amplitud baja, impide la adaptación del tejido estimulado, por consiguiente, el objetivo a obtener es conseguir una mayor duración de la eficacia de la aplicación, puede utilizarse para aumentar el beneficio del tratamiento reduciendo la adaptación (disminución de respuesta) de los nervios estimulados.

Esto quiere decir, que al utilizar esta modalidad si por ejemplo estamos trabajando con una frecuencia de 80 Hz, la modulación máxima es del 20 %, lo que significa que la frecuencia puede variar entre 64 y 80 Hz. En esta modalidad el aparato trabaja en ciclos de 30 segundos - 1seg - 30 segundos, esto significa que se mantiene la frecuencia básica durante 30 segundos, efectuándose a continuación una modulación en el tiempo de 1 segundo hasta llegar a la nueva frecuencia establecida por el aparato, la cual, a su vez, se mantiene durante 30 segundos. Este tiempo es necesario para conseguir una estimulación suficiente sobre el tejido.

Salidas continuas, burst y moduladas

La mayoría de estos aparatos ofrecen un rango de salidas. Estas están descritas para cada patrón del pulso en un modo continuo, burst o modulado. Una salida continua significa que los pulsos se aplican en un patrón continuo en el tiempo.

Una salida burst o paquetes de pulsos indica que el patrón es aplicado en un grupo o tren de pulsos. La salida modulada es una variación en uno o más de la duración del pulso.

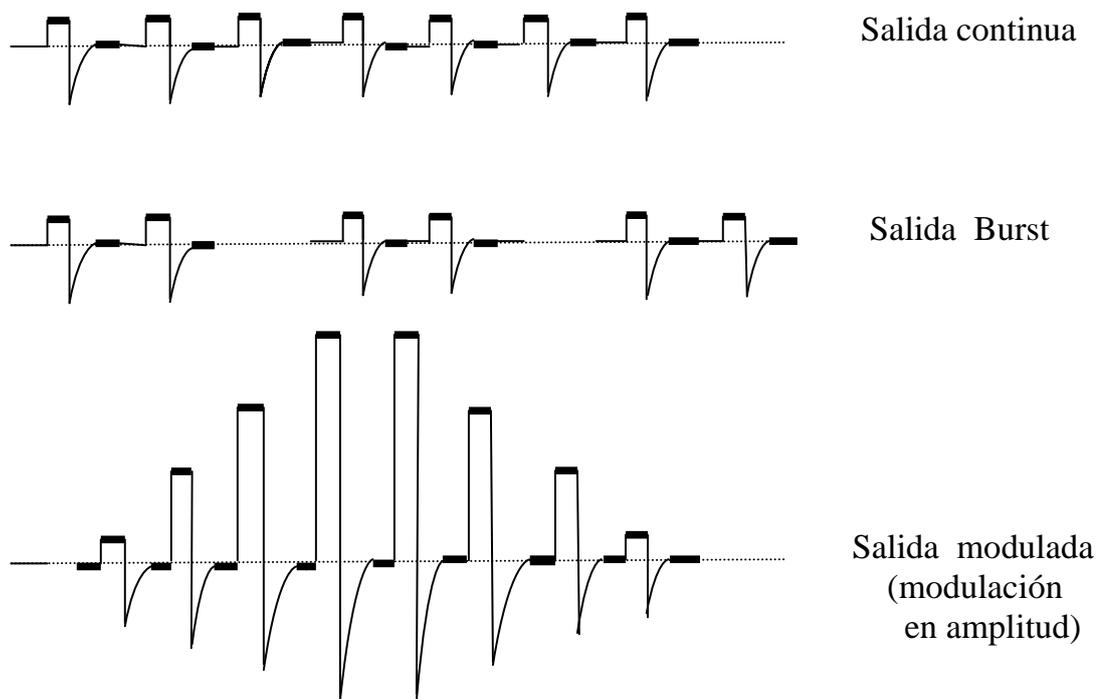


Figura 47- Tipos de salidas

Duración y forma del pulso.

Hemos escogido una duración del pulso bifásico asimétrico para el comienzo del tratamiento de 60 a 150 μseg (de 0,06 mseg a 0,15 mseg.). Nunca se debe sobrepasar duraciones de fase superiores a 0,2 mseg o 200 μseg , la forma del pulso es completamente rectangular, sin líneas oblicuas, lo que garantiza su eficacia. La superficie de la fase de estimulación es igual a la de la fase de compensación. Para que no se produzcan efectos galvánicos.

Frecuencia del pulso.

La frecuencia del pulso en los equipos de la TENS/TEAS puede ajustarse como máximo entre 1 y 200 Hz. De esta manera pueden estimularse selectivamente las fibras nerviosas aferentes de mayor a menor grosor en sus respectivas frecuencias naturales, es decir, en la frecuencia propia de las fibras nerviosas aferentes.

Frecuencia de "ráfaga".

Además del pulso convencional, descrito anteriormente los equipos de TENS/TEAS también ofrecen la posibilidad de trabajar con la modalidad de corriente de "ráfaga". Por ejemplo si en cada una de las "ráfagas" se generan 10 pulsos cuando la frecuencia base de la corriente es de 100 Hz y se selecciona una frecuencia de ráfaga de 2 Hz, con una duración total por "ráfaga" de 125 mseg. de los cuales 25 mseg. serán de ascenso, 75 mseg. de mantenimiento y 25 mseg. de descenso. Cada "ráfaga" se puede ajustar gradualmente .

Polaridad.

El efecto galvánico neto del impulso bifásico asimétrico es cero. En general puede afirmarse que el cátodo (-) es el más estimulante, proporcionando el mayor efecto. El ánodo (+) es menos estimulante, por tanto, el cátodo (-) se aplica en la piel donde se busca la máxima efectividad. Según el tipo de aplicación los electrodos se colocan alineados o en posición opuesta.

Frecuencia del tren de pulsos (burst ó frecuencia envolvente)

Nosotros vamos a utilizar unas corrientes que las podíamos llamar interrumpidas alternas, ya que vamos a utilizar un grupo de corrientes no bien definidas y difíciles de clasificar. Pero como hemos dicho antes estas consisten en aplicar interrupciones de una alterna para formar pequeñas ráfagas o paquetes denominados pulsos. Por lo que a parte de la frecuencia propia de los pulsos, también tendremos otra frecuencia, la frecuencia del burst o de la repetición de los pequeños paquetes de pulsos .

Selección de parámetros.

El objetivo de la selección de parámetros es crear la mejor combinación posible para la señal de salida y por tanto la estimulación en el paciente, con el propósito que ingrese al cuerpo la intensidad de corriente necesaria .

3.4-Tipos de corrientes habitualmente utilizadas en TENS:

Corriente directa (DC): La corriente fluye continuamente en una dirección solamente (unidireccional) a través del tiempo. (fig.49A)

Corriente alterna (AC): la corriente fluye continuamente en ambas direcciones (bidireccional) a través del tiempo. (fig.49B)

La corriente pulsada: la corriente fluye unidireccional o bidireccionalmente(fig.48C) y cesa periódicamente en el tiempo. El elemento básico de este tipo de corriente es un pulso

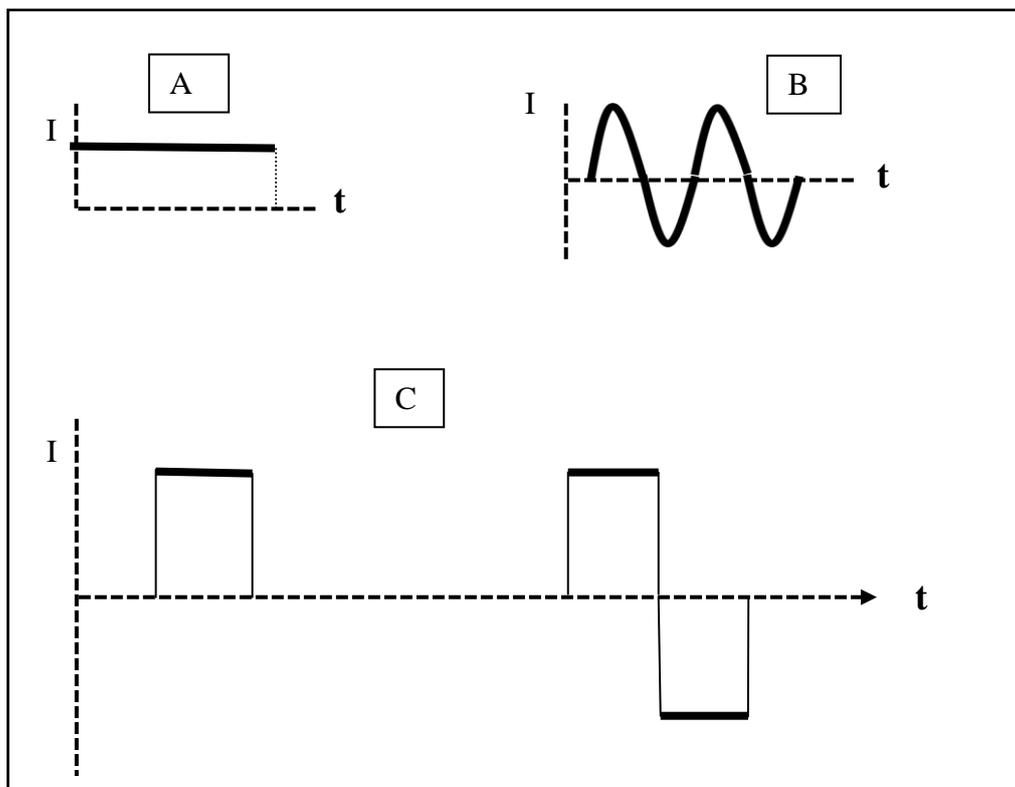


Figura 48- Tipos de corriente

Las corrientes que se han utilizado y diseñados con estos fines (estimuladoras del Sistema Nervioso Sensitivo y no tanto el Motor), son las de:

Trabert: Corriente de aplicación constante formada por impulsos cuadrangulares de 2 ms de impulso, 5 ms de reposo y 142 Hz de frecuencia.

Leduc: Corriente de aplicación constante formada por impulsos cuadrangulares de 1 ms de impulso, 10 ms de reposo y 90 Hz de frecuencia.

Le Go: Corriente de aplicación constante formada por impulsos de subida exponencial y bajada exponencial, con duraciones comprendidas entre 30 a 50 ms, y reposo de 50 a 70 ms, cuyas frecuencias oscilan entre 8 a 12 Hz procedentes de los viejos equipos que generaban sus impulsos por descarga de *condensador*.

Tiratrón: Corriente de aplicación constante formada por impulsos de 5 ms con subida brusca y bajada lenta, 15 ms de reposo y 50 Hz de frecuencia. Se emplearon en su momento, coincidiendo con el diseño y puesta en el mercado del componente electrónico denominado *tiristor*, pero caídas en desuso.

3.5- Modos de aplicación del TENS

Modo de aplicación del TENS de frecuencia baja y amplitud alta (TENS por trenes de impulsos).

Este método de estimulación se suele aplicar para el tratamiento de los dolores crónicos, tratar zonas dolorosas de situación profunda (dolor miofacial) o también cuando la TENS de frecuencia alta y amplitud baja no surte el efecto deseado. Para la aplicación de la TENS por trenes de impulsos, se selecciona una duración de fase relativamente larga (150 a 250 μ seg.), una frecuencia de tren baja preferiblemente 2 Hz (aunque se puede elegir si no se obtienen los resultados esperados entre 1 y 5 Hz) y una amplitud elevada que produzca contracciones fuertes y visibles en los músculos con inervación correspondiente a la zona dolorosa.

Modo de aplicación del TENS de alta frecuencia y amplitud baja

Este tipo de TENS se utiliza sobre todo para la disminución del dolor, las frecuencias más efectivas se sitúan entre los 60 y 110 Hz (recomendable como frecuencia de partida 80 Hz). Se comienza la aplicación ajustando una duración de fase relativamente breve (entre 60 y 150 μ seg.), pueden realizarse las modificaciones siguientes:

1. Cambiar la polaridad de los electrodos.
2. Cambiar la posición de los electrodos.
3. Utilizar la modulación de la frecuencia (espectro).
4. Aplicar la TENS por trenes de impulsos.

4.-Selección del estimulador

La elección adecuada de un estimulador para un tratamiento específico se dificulta debido a la cantidad y diversidad de los estimuladores comerciales, parámetros, terminología y efectos fisiológicos además de la formación errónea que solo tiene propósitos comerciales y no presenta bases científicas.

Este estudio engloba la señal de estimulación necesaria para alcanzar el área indicada. El desarrollo particular de la señal de estimulación, tipos y posicionamiento del electrodo, las técnicas de estimulación que nos permiten transmitir y controlar los pulsos.

A su vez, una parte muy importante del sistema de estimulación es el electrodo, que actúa como interfase de unión entre la circuitería y el punto de baja impedancia de la piel.

En este último lugar, el electrodo será el responsable del acoplamiento al punto de impedancia fácilmente electropermeable y así por lo tanto que la corriente de estimulación alcance nuestra meta. Se verá cómo su estructura es importante tanto a nivel del circuito (para determinar parámetros eléctricos) como a nivel de la estimulación (una estructura u otra del electrodo nos permite obtener mejores resultados).

No nos vamos a entretener en describir los diferentes tipos de electrodos de contacto que existen en el mercado. Sólo haremos una breve descripción:

- Electrodo planos. Son los más utilizados en electroterapia, de forma rectangular, se fijan a la piel por medio de un gel conductor adhesivo.
- Electrodo de ventosa o de copa. Son más utilizados en la terapia interferencial tetrapolar, ya que permiten al paciente, dado su sistema de fijación a la piel por aspiración, cambios de postura sin que los electrodos pierdan su localización y contacto.
- Electrodo de lápiz. Utilizados para tratar puntos dolorosos; dado su tamaño, la densidad de corriente se ve concentrada en dicho punto.

Nosotros hemos elegido electrodos planos de botón, con almohadillas auto-adhesivas impregnadas de carbono desmontables de corchete para los 25 electrodos.

Deberemos de tener en cuenta que el uso de electrodos de distintas superficies implica que, en el más pequeño, tendremos una mayor densidad de corriente y que, por lo tanto, tendremos que variar la amplitud de la corriente. La finalidad de cualquier sistema de estimulación es alcanzar el área donde queremos aplicar el tratamiento. Al elegir una aplicación transcutánea de la electricidad, hemos tenido que buscar los puntos de baja impedancia cerca de los nervios de aplicación.

También comentaremos el estudio realizado de estos puntos y de los recorridos del cuerpo más fácilmente electropermeables. Y por último en este capítulo comentaremos sin profundizar el sistema electrónico necesario para implementar la señal de estimulación. Haciendo énfasis en su composición y en las pruebas técnicas practicadas.

La finalidad de cualquier sistema de estimulación es alcanzar el área donde queremos aplicar el tratamiento. Al elegir una aplicación transcutánea de la electricidad, hemos tenido que buscar los puntos de baja impedancia. Sin embargo, pese a que el equipo elegido es un TEAS y proporciona corrientes de muy baja amplitud, consideramos que estas cumplirán el objetivo de esta tesis, que es conseguir la estimulación de los reservorios del VIH-1 en estado latente.

A continuación hemos tratado de resumir las prestaciones del equipo elegido **TEAS/NEAS**, tratando de resumir las prestaciones de mayor interés que identifican a este estimulador.

- Es un equipo programable que dispone de 25 electrodos.
- Presenta canales de estimulación independientes, lo que permite configurar varios barridos diferentes simultáneamente.
- Permite configurar intensidades de estimulación de microamperios.
- El voltaje de estimulación es ajustado de manera directa por medio del display, entre unos valores previamente codificados, dentro de unos márgenes amplísimos de seguridad, lo que permite garantizar eficientemente el manejo del mismo por personal no cualificado.
- La corriente máxima de estimulación y la inversión de polaridad del tratamiento son configurables, evitando la ocurrencia accidental de altos de niveles estimulación.
- Incluye temporizador programable para el establecimiento de sesiones de terapia.

-Conjunto de Tratamientos Disponibles

Los protocolos o tratamientos incluidos en el estimulador abarcan tanto la gama de bajas como la de muy bajas frecuencias si se considera el espectro correspondiente a la electroterapia. En la figura 46 aparecen resumidos los tratamientos existentes en función del tipo de onda, hemos seleccionado convenientemente los más favorables, pero de los tratamientos posibles predefinidos son 9.

Para el caso de los tratamientos programables, el programador puede ajustar el valor de sus parámetros en amplias gamas de valores, todo lo contrario al caso de los tratamientos predefinidos, los que sólo precisan el ajuste de su voltaje. Los tratamientos son también diferenciables atendiendo al patrón de estímulos eléctricos que caracteriza a cada uno y al efecto fisiológico que producen, que puede ser muy diferente para distintas configuraciones dentro de un protocolo en particular.

Tratamiento	No recomendado	recomendado
Traebert	X	
Diadinámicas	X	
Iontoforesis	X	
Galvánica	X	
Exponenciales	X	
Interferenciales	X	
Rusa		X
Farádicas		X
Curativo		X
Muscular		X
Tonificante		X

Figura 49
Tratamientos programables en función del tipo de onda que se pueden usar .

A continuación aparece una breve explicación de la función de cada uno de sus bloques y de la interconexión entre ellos.

La Unidad de Control Central está constituida esencialmente por un microprocesador. Tiene a su cargo las tareas de suministro a los canales de Interfaz de Usuario, la configuración de los generadores de formas de onda y del control de amplitud, el conteo del tiempo de los tratamientos.

El Generador de Formas de Onda es el encargado de generar los complejos estímulos eléctricos que conforman el grupo de tratamientos. Tiene a su cargo también la comunicación con la Unidad de Control Central. Está constituido esencialmente por un microprocesador.

A través de la Interfaz de Usuario el operador del equipo puede seleccionar, configurar, iniciar y controlar la amplitud de cualquiera de los tratamientos incluidos. Está compuesta por un visualizador alfanumérico de cristal líquido, una pantalla táctil, un generador de señal acústica y LEDs de indicación estado. Este bloque se encuentra atendido esencialmente por la Unidad de Control Central.

También aparece un bloque de control de amplitud de tratamiento por cada canal. Esta etapa, gobernada directamente por la Unidad de Control Central, permite fijar dinámicamente el nivel de estimulación eléctrica según la impedancia correspondiente.

La Barrera de Aislamiento Eléctrico permite el control de circulación de la corriente eléctrica correspondiente a cualquier canal pero siempre sólo circula a través de dos de los electrodos. En otras palabras, permite que la corriente circule de los electrodos de un canal hacia los electrodos del otro. Esto permite realizar un barrido completo del área a tratar y evitar recorridos prohibidos de las señales eléctricas a través del organismo humano.

El amplificador de potencia de salida en cada canal de estimulación presenta una configuración de Fuente de Corriente. Esto hace que el valor de intensidad de corriente eléctrica de estimulación se mantenga constante a pesar de que ocurran cambios en la impedancia de la piel del paciente. Estos cambios pueden tener como posible causa el tipo de piel, grado de sequedad y de sudoración, entre otros factores antes comentados

La Fuente de Alimentación genera las diferentes tensiones de alimentación para el funcionamiento de los bloques analógicos y digitales; garantiza también el aislamiento eléctrico entre los canales al generar tensiones de alimentación duplicadas para los mismos. Garantiza igualmente las especificaciones médicas de seguridad para el paciente en lo que respecta a la rigidez dieléctrica.

Programa Interno de Control: Se encuentra incorporado en la memoria interna del microprocesador y que constituye el núcleo principal del Bloque de Control, referido anteriormente. Entre sus funciones se encuentra el control de los elementos componentes de los canales de la interfaz con el usuario. También es responsable del manejo de la memoria externa que almacena la base de datos correspondiente al conjunto disponible de tratamientos. Una vez definido un tratamiento en cuestión, es el responsable de resolver los datos necesarios para la configuración del Generador de Formas de Onda, así como para el control de la amplitud del mismo. Paralelo a esto, continuamente supervisa el funcionamiento del equipo, estando disponibles una serie de alarmas para casos de mala operación o mal funcionamiento.

Programa Interno de Generación de Señales: Se incorpora a la memoria interna del microprocesador mediante órdenes codificadas. Su tarea fundamental es la obtención de los códigos digitales necesarios para la generación de los estímulos eléctricos de interés terapéutico, usando el esquema de un sintetizador digital directo, técnica de generación de señales analógicas por métodos digitales.

En general el estimulador tiene un diseño funcional y la manipulación por el usuario esta tomada como premisa para la facilidad de su utilización, facilitando su manipulación a personal no especializado, lo que se traduce en un equipo "amigable", intuitivo y sencilla de operar. Por ello se prestó especial atención a la hora de la elección del estimulador la facilidad de operación de los elementos de control y de señalización, Esta operación es realizada gracias a la presencia de tratamientos predefinidos y programables.

5- Estudio acondicionamiento y puesta a punto estimulador

5.1- Bases neurofisiológicas colocación electrodos.

Tenemos que focalizar nuestra estrategia en alcanzar con la corriente pulsada del estimulador ya seleccionado, la “lámina propia de tejido conjuntivo reticulado en la mucosa del intestino “donde intentaremos hacer diana en los linfocitos T de memoria infectados.

El camino más directo para aplicar nuestros electrodos sería por endoscopia y más fácil aun sobre el tronco, pero este tiene muy poca conductancia debido a la cantidad de tejido adiposo. Por ello nos hemos preguntado;

¿Es posible acceder a este área sin necesidad de implantar electrodos ni endoscopia?

¿Por qué caminos se realiza el control de la actividad motora del tubo digestivo ?

¿Podremos utilizarlos?.¿Nos ayudará la electrogastrografia (EGGc)?

La electrogastrografia se encarga de estudiar las transmisiones eléctricas endógenas del control del aparato digestivo. Este control es debido a complejos mecanismos neurológicos, miogénicos, endocrinos y paracrinos. El control de la motilidad digestiva se realiza por medio del sistema nervioso central (SNC), sistema nervioso entérico (SNE) y por control hormonal. El control inicial lo ejerce la actividad eléctrica intrínseca de las células del músculo liso de la pared del tubo digestivo, determinada por el llamado ritmo eléctrico basal. El control neurógeno es el ejecutado por las neuronas del plexo mientérico y del SNC que influyen sobre éstas y existen dos niveles de control adicionales, endocrino y paracrino.

5.1.1- Control miogénico: Las fibras del músculo liso forman haces que contienen aproximadamente un millar de células fuertemente unidas entre si por medio de uniones estrechas llamadas "gap junctions". En ellas existen canales que permiten el intercambio rápido de iones y de pequeñas moléculas. A su vez estos haces de fibras musculares se unen estrechamente entre sí, adoptando una disposición que hace que cada capa muscular se comporte como un sincitio funcional en el que los potenciales eléctricos se propagan rápidamente en todas las direcciones. Luego tenemos una posible vía a través de las fibras musculares .

El músculo liso digestivo en reposo presenta un cierto grado de contracción denominado tono basal que depende de un ciclo lento de actividad eléctrica continua. Durante este ciclo la membrana de las células se depolariza y repolariza lentamente, dando lugar a una variación cíclica en la diferencia de potencial transmembrana llamada ritmo eléctrico basal (REB) o ciclo de ondas lentas. Se origina en diferentes grupos celulares a lo largo del tubo digestivo y se propaga a través de las "gap junctions" de las células musculares en sentido cráneo-caudal.

Sería muy interesante utilizar la vía anteriormente descrita para alcanzar nuestra diana, ¿que clase de impedancia ofrecerá ? ¿que frecuencia necesitamos aplicar?. La EGG nos dice que la frecuencia con que se propagan estas ondas varía en función de la localización, en esófago y estómago proximal no se registran, en estómago distal es de 3 ondas por minuto y en el intestino la frecuencia es decreciente en sentido distal, de 11 cpm registradas en duodeno a 3 - 6 cpm en colon.

5.1.2- Control neurógeno: este control se ejerce a dos niveles, el SNC y el Sistema nervioso entérico. Este último controla directamente la motilidad digestiva a través de programas que determinan los distintos patrones motores. La acción del SNC consiste en modular o seleccionar la actividad motora digestiva que esta programada en el SNE.

5.1.2.1 SNC: modula la motilidad digestiva a través del sistema nervioso autónomo.

Sistema nervioso parasimpático: constituido por el nervio vago cuya acción moduladora es estimulante de la motilidad digestiva. Es el principal punto de conexión entre cerebro y aparato digestivo, siendo sensorial en el 80 - 90% de sus fibras. Las fibras aferentes, más numerosas que las eferentes, recogen la información del tubo digestivo enviándola al cerebro. Sus fibras sensoriales se originan en receptores próximos a los vasos mesentéricos, mecanoreceptores, quimiorreceptores y osmoreceptores de la mucosa del tubo digestivo. La información recogida es llevada al núcleo dorsal del vago, en la médula y de aquí parten fibras eferentes que llegan a la pared del tubo digestivo donde contactan con las neuronas del SNE. Posiblemente esta vía entre las fibras vagales y las neuronas motoras entéricas es otra vía de conducción de las cargas eléctricas que estudiaremos.

Sistema nervioso simpático: el sistema simpático se comporta como un freno de la actividad motora. las neuronas aferentes tienen su relevo en las astas laterales de la médula, hacen sinapsis en ganglios simpáticos pre y paravertebrales (celiaco, mesentérico superior e inferior) con acetilcolina como neurotransmisor. Las neuronas posganglionares conectan con el SNE por medio de noradrenalina. que se une a receptores alfa de neuronas colinérgicas e inhibe la liberación de acetilcolina, a diferencia de lo que hace el vago. La noradrenalina también actúa sobre receptores beta de las fibras musculares lisas produciendo su hiperpolarización lo que las hace refractarias a otros estímulos.

5.1.2.2. Sistema nervioso entérico (SNE): Fue Wood quien llamó la atención sobre la función de éste, desde entonces conocido como "el pequeño cerebro gastrointestinal". La capa muscular del tubo digestivo esta constituida por dos estratos de fibras, longitudinal externa y circular interna, con una red neuronal entre ambas: el plexo mientérico, que constituye el sistema más importante de control neurógeno de la motilidad digestiva. A su vez debajo de la capa mucosa se encuentra una capa fina de músculo liso llamada muscularis mucosa y entre ambas se encuentra una red neuronal llamada plexo submucoso de Meissner.

Ambos plexos están formados por neuronas agrupadas en ganglios que están interconectadas denominándose al conjunto como SNE. Este controla la mayoría de las funciones del tubo digestivo con un alto grado de especialización y autonomía. Se comporta como un centro superior que es capaz de procesar la información sensorial que recibe, y elaborar respuestas motoras o secretoras in situ. Este está constituido por tres tipos de neuronas:

Sensoriales: transmiten información desde los receptores de la pared del tubo digestivo al SNC y a otras neuronas del propio SNE.

Interneuronas: interpretan las señales que llegan del SNC u otras procedencias y determinan que tipo de actividad motora debe llevarse a cabo.

Motoras: reciben ordenes de las anteriores, pudiendo ser excitadoras o inhibitorias y constituyen el enlace entre las interneuronas del SNE y el músculo liso digestivo.

A continuación realizaremos una breve descripción del sistema nervioso:

Sistema central y periférico: El sistema central está compuesto por el encéfalo y la médula espinal y el periférico por los nervios, ganglios y terminaciones nerviosas que conectan el sistema central con las restantes partes de cuerpo. Se caracteriza porque está regido en todo momento por la voluntad.

La médula espinal sirve como conducto de transmisión al cerebro de las señales sensitivas y motoras. Además, en ella se generan gran parte de los actos reflejos subconscientes, como la retirada de una parte del cuerpo ante un estímulo doloroso.

El sistema periférico, está formado por una extensa red ramificada de nervios que se encargan de transmitir la información sensitiva a la médula espinal y cerebro (fibras aferentes) y la transmisión de la información motora desde el sistema central a la periferia, en particular a los músculos esqueléticos (fibras eferentes).

El Sistema autónomo: A diferencia de los anteriores, se caracteriza por no estar dirigido por la voluntad y su función es el control de las funciones viscerales del organismo, presión arterial, sudoración y temperatura corporal, entre otras. Dentro de este se distinguen a su vez, en función de su morfología y de sus efectos: Sistema simpático y parasimpático. Ambos sistemas se caracterizan por producir, en general, efectos antagonistas en los órganos que inervan.

Toda la red anterior (médula, nervios periféricos, simpáticos y parasimpáticos) está formada por lo que se denomina tejido nervioso, que es el que estamos interesados en utilizar.

Para saber cuales son las vías de propagación, hay estudios de síndromes postquirúrgicos en los cuales se produce alteración de la motilidad gástrica, probablemente se ha cortado esa vía de comunicación que nosotros vamos buscando.

Tras una vagotomía, la fase inicial del vaciamiento líquido se acelera, también se afecta la peristalsis del estómago. La vagotomía altera levemente la resistencia a la salida del estómago que conduce a un vaciamiento rápido hacia el duodeno. La vagotomía también induce una disminución de la respuesta motora intestinal a la comida, lo cual contribuye a la diarrea postvagotomía

5.2 Utilización vías de propagación o de control de actividad gástrica

La actividad eléctrica gástrica (AEG) puede servirnos de referencia para nuestro estudio, esta puede medirse por medio de la colocación de electrodos internos (mucosos o serosos) o externos (cutáneos). La electrogastrografía (EGGc) es la disciplina que nos ha servido de apoyo, ya que registra la actividad gastrointestinal con electrodos colocados en la superficie cutánea.

Cuando se conectan un par de electrodos a un equipo de registro, la señal obtenida representa la diferencia de potencial entre ambos (en milivoltios), que viene definida como la resistencia (en miliohmios) por la intensidad de la señal. En el caso concreto de la EGGc la resistencia depende de las características de los tejidos corporales (piel, sangre, estómago, intestino), los líquidos intraluminales (secreciones) y los sólidos (comida), siendo la intensidad de la señal eléctrica detectada por electrodos cutáneos muy débil.

Ciertamente la aplicación por vía directa de las microcorrientes a través de piel se presenta difícil como pensábamos, debido a la gran impedancia ofrecida principalmente por el tejido adiposo que encontramos en el abdomen.

La actividad eléctrica gástrica esta constituida por dos componentes básicos (fig. 47):

la ECA (actividad de control eléctrica u ondas lentas) que corresponde a un cambio de potencial transmembrana que ocurre periódicamente en la célula muscular y que no conduce a peristalsis. y la ERA (actividad de respuesta eléctrica o potencial de espiga) que corresponde a la depolarización transmembrana, la cual lleva a la contracción muscular y a la peristalsis gastrointestinal.

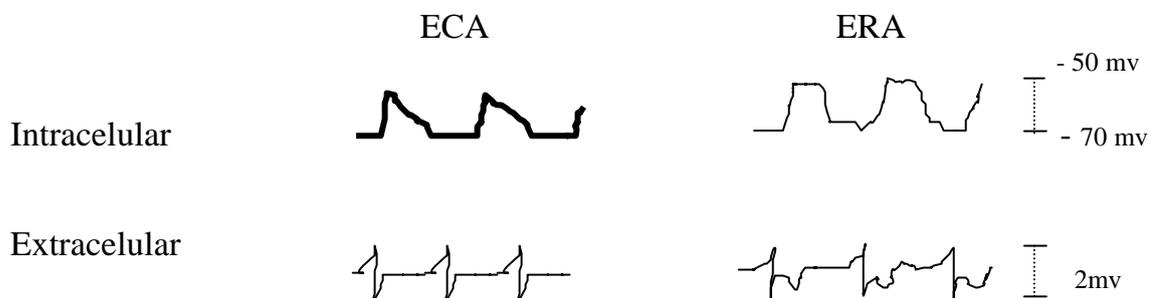


Figura 50
Representación de señales eléctricas gástricas de control (ECA) y respuesta (ERA)

El voltaje mostrado en la (fig. 51) es para registros cutáneos, los registros internos serán del orden de 2 mv.

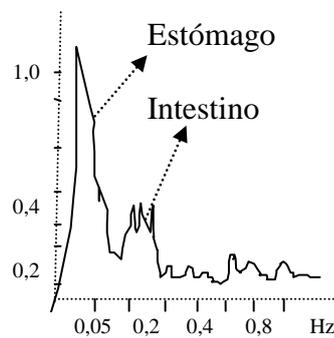


Figura 51 (análisis espectral)
Frecuencias electrográficas

La frecuencia de la señal eléctrica gástrica es de 0.05 Hz ó 3 cpm es el punto de máxima potencia de la gráfica. Luego por orden de potencia vienen, la señal procedente del intestino que es de unos 0,2 Hz ó 13 cpm en el duodeno y un poco mayor para el colon. Estas señales suelen encontrarse interferidas por señales procedentes de otros órganos, como son la cardíaca y respiratoria.

En la (fig. 51) se pone de manifiesto la pequeña potencia de la señal que se registra en la piel, después de ser atenuada por el tejido adiposo. La ventana de frecuencias de entre 0,2-0,3 HZ proveniente del intestino nos da una indicación de ello.

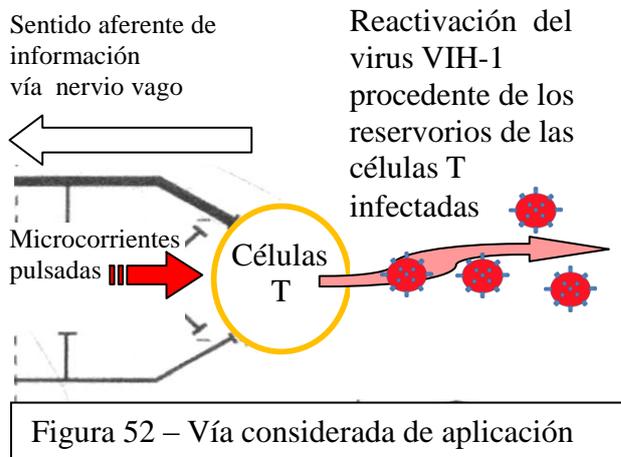
Por lo que vamos a analizar otra posible vía, que es la que regula la motilidad antes reflejada y esta se realiza a través de una serie de señales sensoriales provenientes del sistema nervioso.

5.3 Sistema de nervios craneales

Sobre todo nos hemos centrado en el mecanismo del sistema de nervios craneales, (Fig.58) , como un sistema de procesamiento de información del cual tomamos como unidad básica el nervio vago, en el cual posicionamos nuestro electrodo de referencia.

Elegimos este mecanismo ya que en sentido aferente hay una comunicación entre este nervio y la lámina propia de tejido conjuntivo reticulado en la mucosa del intestino, que es donde están nuestros reservorios.

Aunque en 1904 Ramón y Cajal [69] demostró la discontinuidad en estas vías, ya que las neuronas eran contiguas pero independientes (sin establecer contacto entre ellas). Luego siempre vamos a encontrar una discontinuidad anatómica en la impedancia del conductor, esta discontinuidad es la sinapsis entre las neuronas. Debido a esto podríamos pensar en utilizar las vías intersticiales, así como las llamadas células de Cajal, que serán las encargadas de gran parte de la propagación eléctrica.



El sistema de procesamiento de la información corporal está compuesto de tres subsistemas que difieren en sus funciones y escalas temporales, pero estos subsistemas funcionan de forma interactiva, por ejemplo, coordinando los linfocitos T.

(Fig. 53)

Todos los TEAS utilizan los nervios del sistema craneal por ser los más estratificados de entre los sistemas de procesamiento de información del cuerpo humano. Además, nuestro sistema solo utiliza estos nervios para reconducir nuestra microcorriente a las áreas en cuestión. Es un método muy "político". No se trata de intervenir en su "política" de forma represiva, sin interferir su propia comunicación ni reemplazar su orden. Queremos alcanzar nuestro objetivo sin alterar el orden de otros subsistemas como el endocrino o el inmunológico.

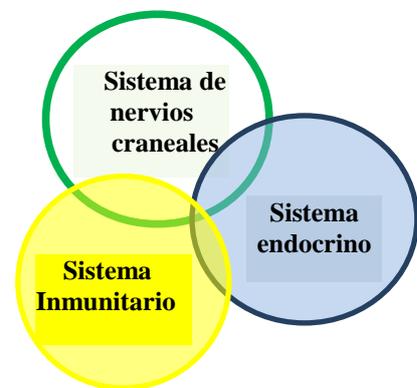


Figura 53
Procesamiento de información por el sistema de nervios craneales

Por esta vía que hemos utilizado (Fig. 52) circula el tono basal, que es producido por las variaciones cíclicas de corrientes endógenas, en nuestro caso de las células del músculo liso del intestino. Es muy importante que utilicemos esta vía, ya que es independiente de la intervención química que se produce en la sinapsis por hormonas y neurotransmisores. Estamos hablando de la sinapsis eléctrica que será la que nos ha permitido el paso de la corriente eléctrica a través de las membranas celulares en contacto a través de los canales iónicos dependientes del voltaje. El sentido de circulación también es el adecuado, si utilizamos como parte de la vía las células de cajal, ya que es sentido craneo-caudal.

Las vías del potencial de espiga no las utilizaremos, ya que intervienen en la sinapsis química, con la consiguiente posible intervención en otros subsistemas como el endocrino.

6-Estudio de los puntos de baja impedancia necesarios

Cuando la corriente es aplicada a un tejido vivo por un par de electrodos, la distribución espacial de esta es virtualmente desconocida, a causa de las diferentes resistividades de los tejidos y fluidos y de sus arreglos particulares como hemos visto. No existe un modo simple para realizar mediciones exactas de distribución de la densidad de corriente en tejido anisotrópico. Los tejidos vivos poseen diferentes propiedades eléctricas en direcciones diferentes, por lo que, una exacta especificación de la distribución local de la corriente, necesita del conocimiento de la resistividad y gradiente del voltaje a lo largo de tres ejes. La medición práctica de estas cantidades es una tarea muy difícil, encontrando una aproximación muy complicada.

Configuración de la vía y el circuito de entrada

El impacto de la señal eléctrica débil resulta amplificado gracias a su "entrada por múltiples vías". Para que esa entrada sea lo más efectiva posible, necesitamos escoger cuidadosamente los puntos de baja impedancia y según su elección es necesario configurar un circuito estructurado y dinámico de suministro de corriente eléctrica, que englobe los puntos de entrada que conectan de forma conjunta con el sistema nervioso autónomo o a las funciones fisiológicas relacionadas, e incluya, a su vez, las vías centrales (sistema nervioso central).

La frecuencia como información compartida

La frecuencia es un factor crítico para excitar, inhibir o estabilizar la neurona. Una clave poderosa para excitar la neurona con la menor intensidad de energía y de la manera fisiológica más parecida para estabilizar la acción de la membrana. Por todo esto hemos utilizado un rango de frecuencias similares a las frecuencias endógenas antes analizadas. La frecuencia que nuestro TEAS funciona como "información compartida", que transmite al sistema de nervios craneales (en nuestro caso el nervio vago) conduciendo las microcorrientes a través del sistema nervioso autónomo lanzando niveles de actividad a discreción, sin inducir excitabilidad nerviosa.

Los tratamientos tradicionales por estimulación eléctrica recurrían al pulso de potencial despolarizante (-) que excita la neurona, como único medio de tratamiento. Este método pone el énfasis en la utilidad del pulso del potencial hiperpolarizante (+), que reemplaza el efecto estabilizador de membrana por la conductancia de los iones sodio y potasio

Las respuestas de un canal de la membrana celular ante la estimulación, se aplicarían como secuencias de signos "digitales" de apertura o cierre. La célula suple su defecto de no poder hacer coincidir con precisión la respuesta de cada canal con la estimulación, sumando las respuestas emitidas desde los distintos canales. La estimulación podría lograr una mejoría en la captación de información que ocurre a nivel celular.

6.1-Conducción a través de los nervios simpáticos y parasimpáticos mediante estimulación con depolarizaciones débiles

La secreción de la nor-epinefrina y la noradrenalina por la activación de los nervios del sistema simpático, excita las funciones involucradas en una acción urgente (pelea, vuelo) como son la cardiaco-respiratoria, el azúcar de la sangre, sudar o el estado de alerta.

Los nervios del sistema parasimpático, pasan por los nervios craneales, nosotros hemos utilizado la vía a través del nervio vago, esta es la responsable de la secreción de la acetilcolina que promueve actividades más pacíficas como la digestión.

La mayoría de las vísceras y posiblemente los órganos linfoides estarán reguladas por un sistema u otro.

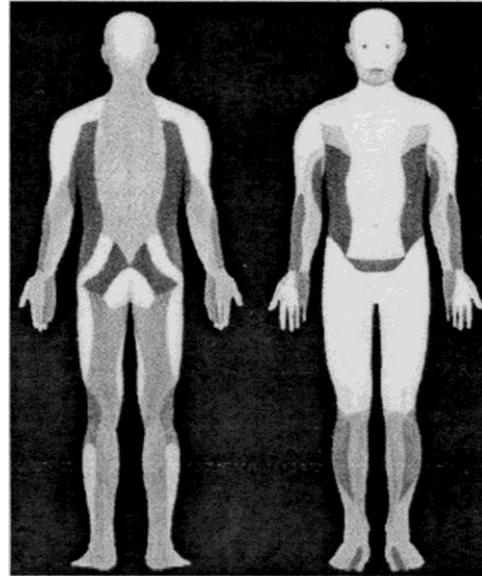


Figura 54 A
Inervación de los nervios cutáneos periféricos y ejemplo de configuración de los canales de suministro de corriente eléctrica

Existe interacción entre el cerebro y el sistema inmune, el estrés puede influenciar la función del sistema inmune. El estrés puede inducir aumentos y descensos de la función inmune. Como cuando el sistema inmune es activado como un antígeno, por lo que también el SNC puede ser activado por un agente estresante. Un antígeno activa el sistema inmune y un agente estresante activa el SNC. El sistema inmune debe ser capaz de percibir la presencia de un antígeno. Mientras que el SNC debe ser capaz de percibir la presencia de un agente estresante.

La estimulación eléctrica de el hipotálamo produce un aumento en la producción de anticuerpos en animales inmunizados. Cuando los animales son inmunizados con un antígeno y la actividad eléctrica del hipotálamo es monitorizada, hay un aumento en la actividad eléctrica al mismo tiempo que hay un máximo de respuesta inmune.

Las IFANS (intestino-fugal afferent neurons) estas neuronas del sistema nervioso entérico, tienen cuerpos celulares en la pared de la tripa y mandan sus procesos al prevertebral ganglia, donde estas forman sinapsis con las neuronas simpáticas post-ganglionicas.

Las neuronas simpáticas que son inervadas por las IFANS son inhibitoras de la motilidad y neuronas inhibitoras secretomotoras.

Pero también existen unas neuronas que son las IPAN (intrinsic primary afferent neurons), estas neuronas aferentes llevan información, existen visceral aferentes que median en una sensación consciente desde la víscera, en nuestro caso el intestino.

Estas neuronas aferentes llevan información hacia los centros reflejos o a circuitos nerviosos de integración. Mientras que las neuronas eferentes son neuronas motoras a músculos y glándulas.

Nosotros hemos prestado más atención a las fibras nerviosas que inervan la mucosa, estas están sobre el tejido conectivo de la lamina propia del intestino y este tejido es por donde hemos tratado de conducir nuestras microcorrientes de despolarizaciones débiles de nuestro estimulador. Estas fibras nerviosas de la mucosa también están pegadas a las células del sistema inmune, nódulos linfáticos (Peyer's patches) y sobre todo para los linfocitos T de memoria, que hemos intentado alcanzar con nuestras microcorrientes.

Curiosamente las células nerviosas del sistema entérico no son generadas en la tripa, ellas provienen de células precursoras que migran desde la cresta neural. Las células neuronales entéricas precursoras alcanzan su desarrollo en la tripa gracias a su migración a través del nervio vago (Gershon M. D. et al. 2002 [70]). Esto confirma nuestro posicionamiento del electrodo de referencia en dicho nervio.

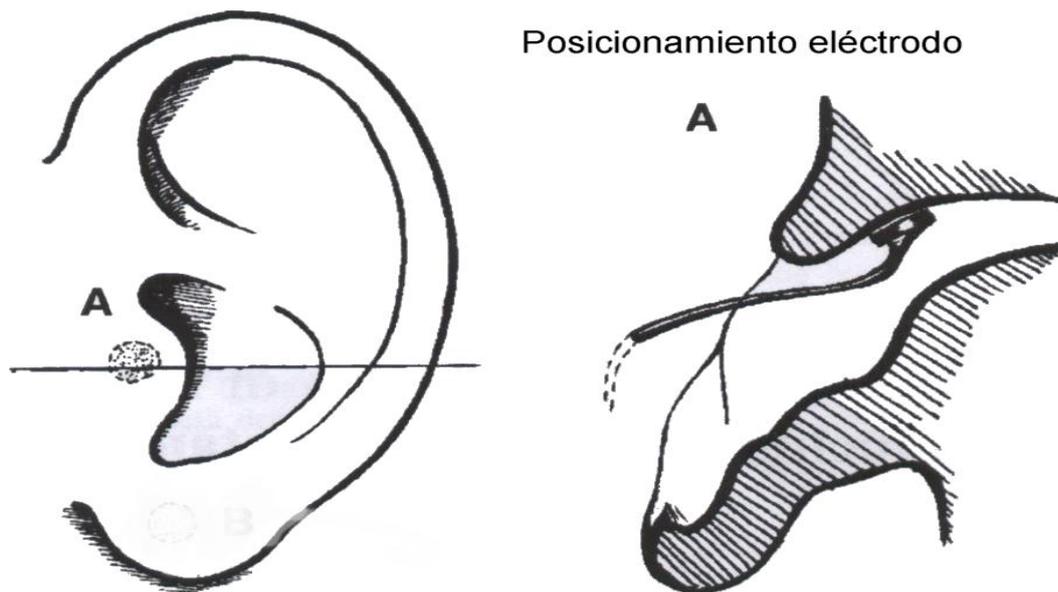


Figura 54 B . Posicionamiento del electrodo en el nervio vago

6.2 Estudio de los puntos electropermeables de la piel por zonas

Nuestro modo de tratamiento recurre a corrientes eléctricas de intensidad inferior al umbral perceptivo, por lo que necesitamos encontrar unos puntos de entrada con la menor impedancia posible.

6.2.1 Zona cabeza-cuello

Nervios correspondientes.

El objetivo de la presente sección es el tratamiento terapéutico de los nervios pertenecientes a los niveles V1-V3 y (1-4).

Los puntos estándares de tratamiento se encuentran en las zonas periféricas dominadas por: las tres ramas principales del nervio trigémino; oftálmico (V1), maxilar (V2) y mandibular (V3), nervio occipital mayor, nervio occipital menor, nervio auricular mayor y las ramas dorsales de los nervios cervicales (de 3 a 4). Entre los puntos de tratamiento, los puntos 9, 10, 23 y 24 se superponen al nervio transverso cervical (transverse cervical nerve) y a los supraclaviculares. Estas ramas, en combinación con las ramas faciales (Ramus colli), constituyen el asa cervical superficial (Ansa cervicalis superficialis).

Estos son puntos de tratamiento estándar del TEAS, nosotros no utilizaremos ningún punto de la presente zona, ya que para nuestro caso, como hemos visto anteriormente posicionaremos el electrodo de referencia en el interior del tragus (fig.54b)

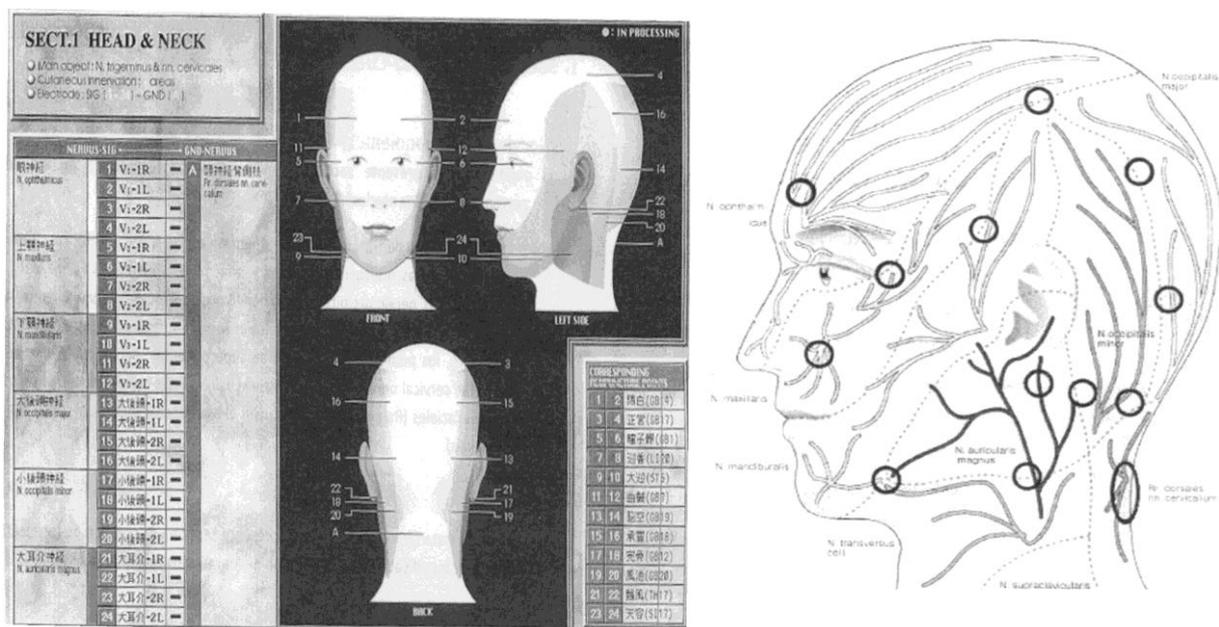


Figura 55
Puntos electropermeables cabeza-cuello

6.2.2 Zona extremidad(es) superior(es)

- Nervios correspondientes.

Los objetivos correspondientes a esta sección son: C3-T1.

Los puntos estándares de baja impedancia se encuentran en las zonas periféricas dominadas por:

Nervio radial (inclusive: nervio cutáneo antebraquial lateral, nervio cutáneo braquial posterior y antebraquial lateral, nervio cutáneo antebraquial posterior), nervio mediano (inclusive: ramo mediano palmar), nervio cubital (inclusive: nervio cutáneo mediano antebraquial, nervio cutáneo mediano braquial), y los ramos dorsales de los nervios cervicales (C3-C4,). Entre los puntos de tratamiento, los puntos 7 y 8 comparten área con nervio axilar y los puntos 23 y 24 comparten área con nervios intercostales braquiales.

Nosotros hemos escogido los puntos 1, 3, 9, 11,17 y 19 en ambas extremidades.

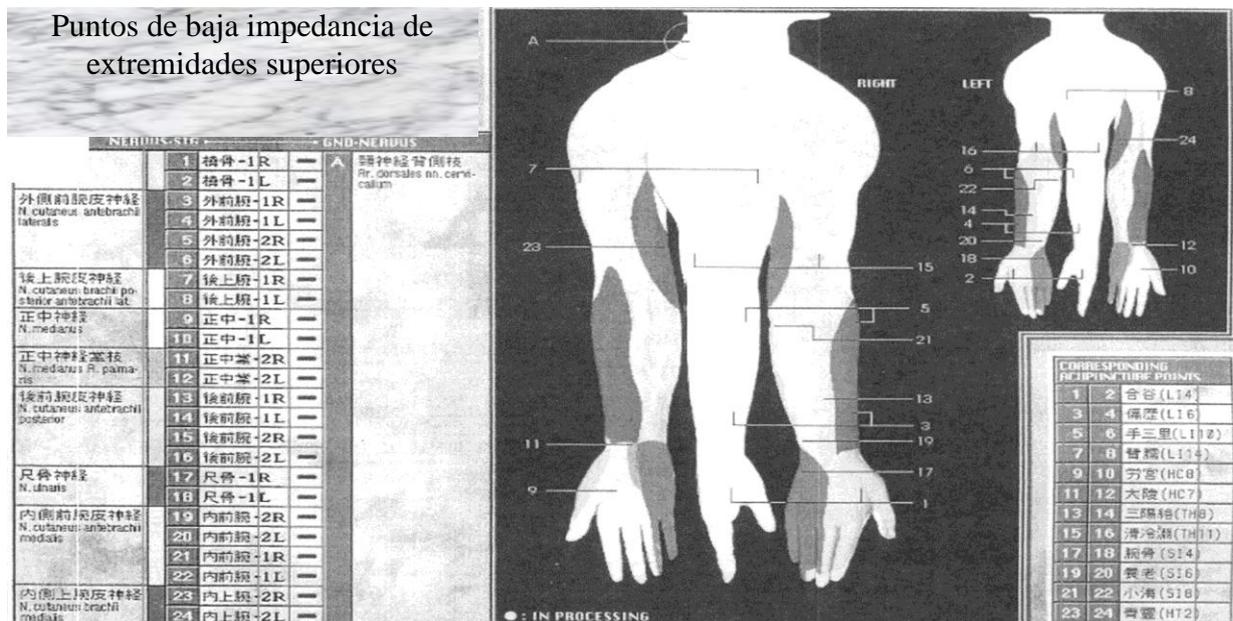


Figura 56
Puntos electropermeables extremidades superiores

6.2.3 Zona Tronco

- Nervios correspondientes.

Los niveles nerviosos correspondientes a esta sección son C4-52

Existe la creencia que los puntos de baja impedancia conectan con los órganos a través de la columna vertebral. Los puntos estándares de baja impedancia se encuentran en los puntos esenciales de las zonas dermatómicas (tanto periféricas como segmentales) dominadas por: nervio supraclavicular, ramos dorsales de los nervios cervicales, ramos dorsales de los nervios torácicos, ramos dorsales de los nervios torácicos, ramos cutáneos laterales de los nervios intercostales, nervio iliohipogástrico y ramos dorsales de los nervios lumbares (fig. 57). Existen casos en que la estimulación centrípeta procedente de los órganos enfermos transmitida, a través de los ramos comunicantes de los nervios simpáticos, al segmento vertebral, se irradia en la zona cutánea correspondiente.

De modo que es evidente que existe algún tipo de enlace entre fibras aferentes y el arco reflejo orgánico a nivel sináptico vertebral (fig. 57). Ahora bien, los nervios vertebrales de la zona torácica extienden los ramos posteriores de las fibras sensoriales hacia el lado dorsal y los ramos anteriores hacia la zona ventral e intercostal.

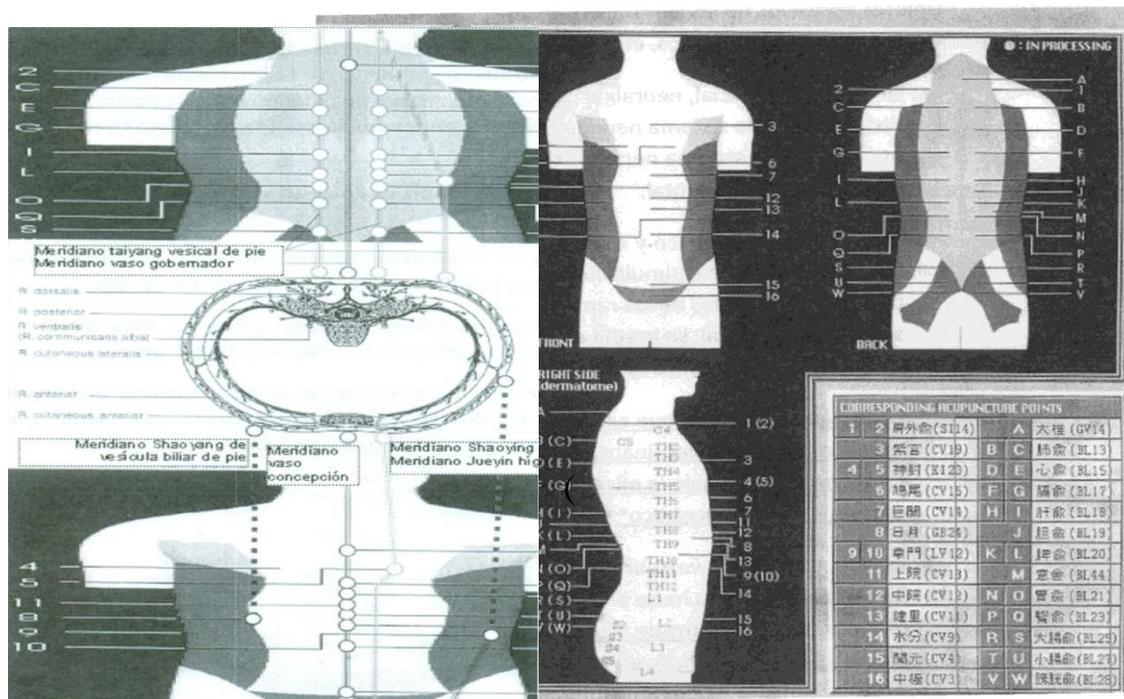


Figura 57
Puntos de baja impedancia tronco

Estos son puntos de tratamiento estándar del TEAS, nosotros no utilizaremos ningún punto de la presente zona.

6.2.4 Zona extremidad(es) inferior(es)

- Nervios correspondientes.

Los niveles nerviosos correspondientes a esta sección son L1-S3.

Los puntos estándares de baja impedancia se encuentran en los puntos esenciales de las zonas dermatómicas dominadas por: nervio fibular (nervio fibular común, nervio fibular superficial, nervio fibular profundo), nervio sural, nervio cutáneo femoral lateral, nervio femoral (incluye nervio safeno), nervio cutáneo femoral posterior, nervios lumbares y los ramos dorsales de los nervios sacros (tanto nervio cluneal superior como nervio cluneal mediano) (fig. 58).

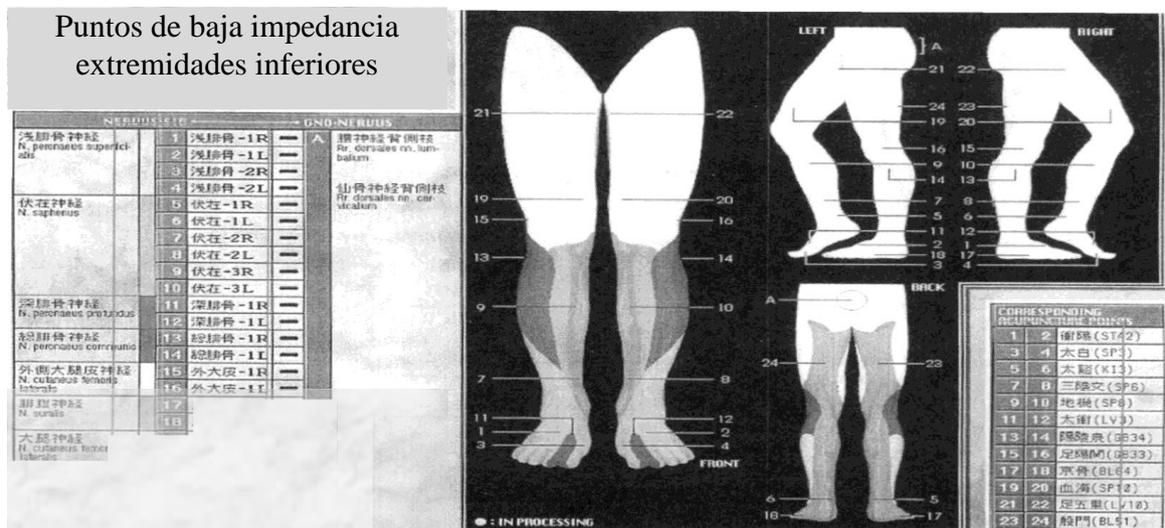


Figura 58
Puntos de baja impedancia tronco

Nosotros hemos escogido los puntos 1, 2, 8, 9, 11 y 12 en ambas extremidades.

6.2.5 Circulación, barrido completo por todo el cuerpo.

En esta sección vamos a comunicar todos los electrodos que hemos posicionado en las zonas anteriores para poder realizar un barrido con nuestras microcorrientes por todo el cuerpo. Estableceremos una comunicación eléctrica por todo el cuerpo mediante la conexión que enlaza la extremidad superior (C4-Th1) y la extremidad inferior (L4-S2). No hemos tenido que posicionar ningún electrodo en la zona del tronco, debido a que los puntos de baja impedancia se encuentran en los extremos distales de cada miembro, haciendo posible el barrido con nuestra corriente sin necesidad de quitarse la ropa.

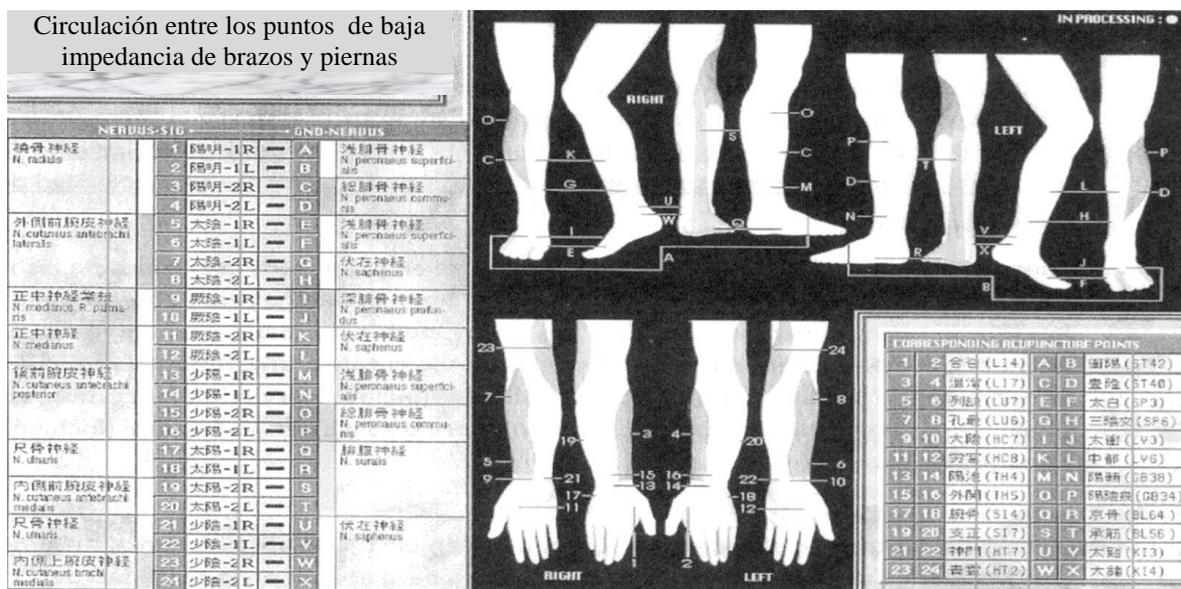


Figura 59- Circulación entre los puntos de brazos y piernas

Los pulsos de corriente entran simultáneamente desde las dos extremidades: superior e inferior siguiendo unos patrones de circulación establecidos en la programación.

Estas vías que comunican los puntos de baja impedancia de las extremidades inferiores y superiores son conocidos en la medicina oriental. Existen 3 circulaciones que recorren la parte interior del pie hacia arriba, bajan por el lado interior de la extremidad superior y terminan en los dedos de la mano. También encontramos otras 3 circulaciones que recorren la parte exterior de la extremidad superior hacia arriba, bajan por el lado exterior de la extremidad inferior y terminan en los dedos de los pies. Existe un flujo similar en la medicina basada en la evidencia que corresponde al flujo dinámico que se observa en las fibras aferentes y eferentes del sistema central. Basándonos en este planteamiento, hemos ideado este método que consiste en simular este flujo endógeno mediante una corriente eléctrica minúscula, conectando los terminales eléctricos en los puntos iniciales y finales de cada "canal meridiano". (Lee M.S 2005)[34]

6.2.6 Patrones de circulación de señal, asignación canal electrodo.

En la siguiente figura queda reflejada la dirección y sentido de la circulación comentada en el apartado anterior.

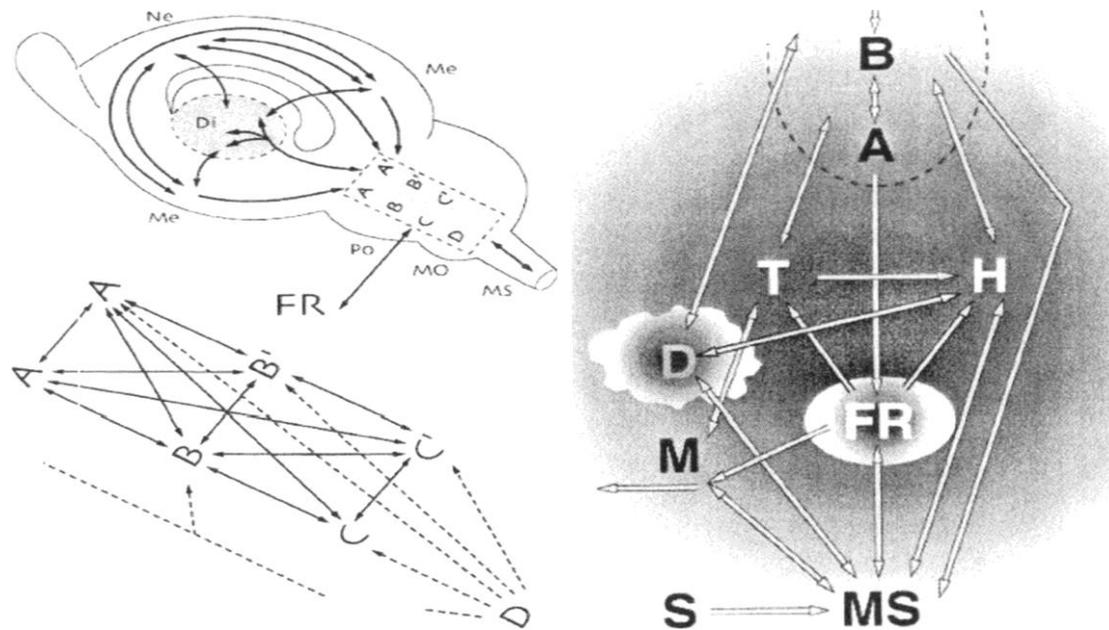


Figura 60- flujo dinámico que se observa en las fibras aferentes y eferentes del sistema

Cuando la información (S) procedente de la periferia entra en la médula espinal (MS: sistema de clasificación), se la envía a la formación reticular (FR). Allí se amplifica (en ocasiones se inhibe). En el diencefalo (T: tálamo, H: parte inferior del tálamo) se modifica. Luego se la envía a la corteza cerebral (A: centro de memoria y aprendizaje; B: centro de reconocimiento del dolor).

A: Unión de la formación reticular y las regiones superiores e inferiores. B: Interconexión del interior del cuerpo de la formación reticular (retícula de circuito cerrado), el sistema nervioso autónomo (O) (M: sistema motor).

Se podrían formar aproximadamente 1000 circuitos, si todas las conexiones de las zonas A -A', B - B'-, C - C', formaran circuitos cerrados. Nosotros solo vamos a representar 64 patrones de circulación de la señal, 64 codificaciones asignadas entre canal y electrodo que podemos ver en la siguiente figura (fig.62).

Sin embargo, estas suposiciones son relativas a la estimulación eléctrica del cuerpo a niveles de $1\mu\text{A}$, y no contemplarían solo el paso por el sistema nervioso. Las corrientes eléctricas aplicadas superficialmente en los puntos electropermeables, podrían penetrar y alcanzar el tejido conectivo y mediante este, el liquido intersticial y finalmente a través de los vasos sanguíneos hasta las células.

Este tejido conectivo puede jugar el rol de conexión e integración de varias funciones fisiológicas (sensorial, circulación, inmune). Se está investigando también la comunicación eléctrica a través del fluido intersticial.

Encontrándose que la polaridad de los campos eléctricos potenciales es en la misma dirección del flujo del fluido intersticial, cuando el sentido de la corriente potencial domina. Y será en el otro sentido cuando la difusión potencial domina. (Lai WM et al 2000)[35]

En la siguiente figura podemos ver la asignación de etiquetas de los patrones de circulación entre canal y electrodo.

CHANEL	NERVE	FLAG	-NERVE2	FLAG	CHANEL	NERVE	FLAG	-NERVE2	FLAG
1- 1	環	1 L	頸-背側	1 C	3- 1	鎖骨上	1 L	頸-背側	1 L
1- 2	環	1 R	頸-背側	1 C	3- 2	鎖骨上	1 R	頸-背側	1 R
1- 3	環	2 L	頸-背側	1 C	3- 3	胸-腹側	1 L	胸-背側	1 L
1- 4	環	2 R	頸-背側	1 C	3- 4	胸-腹側	1 R	胸-背側	1 R
1- 5	上頸	1 L	頸-背側	1 C	3- 5	胸-腹側	2 L	胸-背側	2 L
1- 6	上頸	1 R	頸-背側	1 C	3- 6	胸-腹側	3 R	胸-背側	2 R
1- 7	上頸	2 L	頸-背側	1 C	3- 7	胸-腹側	4 L	胸-背側	3 L
1- 8	上頸	2 R	頸-背側	1 C	3- 8	胸-腹側	4 R	胸-背側	3 R
1- 9	下頸	1 L	頸-背側	1 C	3- 9	胸-腹側	5 L	胸-背側	4 L
1- 10	下頸	1 R	頸-背側	1 C	3- 10	胸-腹側	5 R	胸-背側	4 R
1- 11	下頸	2 L	頸-背側	1 C	3- 11	胸-腹側	6 L	胸-背側	5 R
1- 12	下頸	2 R	頸-背側	1 C	3- 12	胸-腹側	7 R	胸-背側	6 L
1- 13	大後頸	1 L	頸-背側	1 C	3- 13	胸-腹側	7 L	胸-背側	6 R
1- 14	大後頸	1 R	頸-背側	1 C	3- 14	胸-腹側	8 R	胸-背側	7 L
1- 15	大後頸	2 L	頸-背側	1 C	3- 15	胸-腹側	8 L	胸-背側	7 R
1- 16	大後頸	2 R	頸-背側	1 C	3- 16	胸-腹側	9 R	胸-背側	8 L
1- 17	小後頸	1 L	頸-背側	1 C	3- 17	胸-腹側	9 L	胸-背側	8 R
1- 18	小後頸	1 R	頸-背側	1 C	3- 18	胸-腹側	10 R	胸-背側	9 L
1- 19	小後頸	2 L	頸-背側	1 C	3- 19	胸-腹側	10 L	胸-背側	9 R
1- 20	小後頸	2 R	頸-背側	1 C	3- 20	肋間-外皮	1 R	胸-背側	1 R
1- 21	大耳介	1 L	頸-背側	1 C	3- 21	肋間-外皮	2 L	胸-背側	2 L
1- 22	大耳介	1 R	頸-背側	1 C	3- 22	肋間-外皮	2 R	胸-背側	2 R
1- 23	大耳介	2 L	頸-背側	1 C	3- 23	鎖骨下腹	1 L	腰-背側	1 L
1- 24	大耳介	2 R	頸-背側	1 C	3- 24	鎖骨下腹	1 R	腰-背側	1 R
2- 1	鎖骨	1 L	頸-背側	1 C	4- 1	淺肋骨	L	腰仙-背側	1 C
2- 2	鎖骨	1 R	頸-背側	1 C	4- 2	淺肋骨	R	腰仙-背側	1 C
2- 3	外前腋	1 L	頸-背側	1 C	4- 3	淺肋骨	L	腰仙-背側	1 C
2- 4	外前腋	1 R	頸-背側	1 C	4- 4	淺肋骨	R	腰仙-背側	1 C
2- 5	外前腋	2 L	頸-背側	1 C	4- 5	深肋骨	L	腰仙-背側	1 C
2- 6	外前腋	2 R	頸-背側	1 C	4- 6	深肋骨	R	腰仙-背側	1 C
2- 7	後上腋	1 L	頸-背側	1 C	4- 7	越肋骨	L	腰仙-背側	1 C
2- 8	後上腋	1 R	頸-背側	1 C	4- 8	越肋骨	R	腰仙-背側	1 C
2- 9	正中	1 L	頸-背側	1 C	4- 9	棘隆	L	腰仙-背側	1 C
2- 10	正中	1 R	頸-背側	1 C	4- 10	棘隆	R	腰仙-背側	1 C
2- 11	正中掌	1 L	頸-背側	1 C	4- 11	伏在	L	腰仙-背側	1 C
2- 12	正中掌	1 R	頸-背側	1 C	4- 12	伏在	R	腰仙-背側	1 C
2- 13	後前腕	1 L	頸-背側	1 C	4- 13	伏在	L	腰仙-背側	1 C
2- 14	後前腕	1 R	頸-背側	1 C	4- 14	伏在	R	腰仙-背側	1 C
2- 15	後前腕	2 L	頸-背側	1 C	4- 15	伏在	L	腰仙-背側	1 C
2- 16	後前腕	2 R	頸-背側	1 C	4- 16	伏在	R	腰仙-背側	1 C
2- 17	尺骨	1 L	頸-背側	1 C	4- 17	大腿	L	腰仙-背側	1 C
2- 18	尺骨	1 R	頸-背側	1 C	4- 18	大腿	R	腰仙-背側	1 C
2- 19	內前腕	1 L	頸-背側	1 C	4- 19	大腿	L	腰仙-背側	1 C
2- 20	內前腕	1 R	頸-背側	1 C	4- 20	大腿	R	腰仙-背側	1 C
2- 21	內前腕	2 L	頸-背側	1 C	4- 21	外大腿皮	L	腰仙-背側	1 C
2- 22	內前腕	2 R	頸-背側	1 C	4- 22	外大腿皮	R	腰仙-背側	1 C
2- 23	內上腕	1 L	頸-背側	1 C	4- 23	後大腿	L	腰仙-背側	1 C
2- 24	內上腕	1 R	頸-背側	1 C	4- 24	後大腿	R	腰仙-背側	1 C

Figura 61
Codificaciones asignadas entre canal y electrodo

Aunque la principal ruta de comunicación celular es de naturaleza química. Ya que las células reconocen una serie de ligandos (para nuestro caso, en células sin infectar por el VIH-1, los antígenos son los que reactivan los receptores de la célula T de memoria). Los receptores siempre son proteínas, mientras que los ligandos pueden ser proteínas u otros tipos de biomoléculas.

La mayor parte de los receptores están situados también en la membrana de la célula y, al unirse al ligando, sufren un cambio conformacional que permite su interacción con otras proteínas. De este modo los receptores ponen en marcha una serie de reacciones químicas en cadena (cascada o vías de señalización) y al final de las vías de señalización (activación de un factor de transcripción). La interrupción de esta serie de reacciones (para nuestro caso interrupción de la transcripción genética del silente provirus del VIH-1)

En el cuerpo se difunden de manera aleatoria la despolarización y la hiperpolarización, generando fluctuación en las vías de entrada y la dirección de la corriente, y forma dentro del cuerpo campos eléctricos que varían dinámicamente. En los medios con baja resistencia citoplasmática, fluye corriente local débil respondiendo a los gradientes del potencial.

La señal eléctrica positiva y negativa que ha entrado de forma aleatoria y estructurada desde un amplio espectro de vías somáticas, como los puntos de baja impedancia, genera simultánea y espacialmente "ondas" de despolarización y "agujeros" de hiperpolarización débiles. El efecto rebote de las "ondas" de despolarización débiles hacia las funciones parasimpáticas en un área amplia, interfiere en las señales nociceptivas que mantiene el sistema nervioso simpático.

La generación sucesiva de "agujeros" de hiperpolarizaciones locales en una amplia área de terminaciones nerviosas vegetativas, interfiere indirectamente en la actividad de los nervios sensitivos centrípetos que retroalimentan la actividad de los nervios simpáticos, e inhibe la suma de información excitatoria en las innumerables sinapsis presentes en los tractos ascendentes. Cada cuerpo celular reconoce, disociándolas, las regiones de vibraciones cuasi periódicas espaciales. Es posible que la densidad del pulso del período de las ondas, sea la información básica más importante que interviene en el mantenimiento del cuerpo.

Esta información estaría implicada en el "descanso de la actividad de la formación reticular", es decir, en la inhibición de los mecanismos de amplificación de toda clase de señales nociceptivas, o de los que mantienen la actividad del nivel de conciencia.

Mediante la transmisión espacio-temporal a las estructuras centrales de esta información procedente de un amplio espectro de vías somáticas se inhibe su sobreactividad y la de los nervios periféricos relacionados o la del sistema nervioso simpático.

Lo expuesto es una reflexión hecha desde la perspectiva del modelo de sustrato. Se cree que la formación reticular se disocia de la actividad de los núcleos del sistema nervioso vegetativo (presión arterial, actividad cardíaca, respiración, etc.) y del exceso de interferencia, por ejemplo, en el control del tono muscular, para el mantenimiento del equilibrio; se estimula el sueño y se logra una influencia continuada e interactiva sobre el sistema endocrino (modelo de hormona) y el sistema inmunológico. Tal como se ha mencionado más arriba, las hormonas del crecimiento, la gonadotropina y los corticoides predominan en la fase del sueño, mientras que durante la vigilia lo hacen la epinefrina, la norepinefrina y la dopa.

6.2.7 Estudios de impedancias epidérmicas

Está demostrada la existencia de áreas epidérmicas donde los registros de la resistencia cutánea indican diferencias significativas comparadas con el área circundante. Y es importante saber que dichas áreas coinciden con los puntos de acupuntura, aún en trabajos basados en el modelo de la evidencia realizados por investigadores que nada tienen que ver con el mundo de la acupuntura.

A partir de estos estudios y de su verificación en la clínica, puede deducirse que existe una relación estrecha entre la resistencia o la intensidad eléctrica de un punto y su carga energética.

Más allá de discutir la identidad entre esta carga eléctrica del punto y lo que la acupuntura entiende por energía, aparece evidente la relación entre ambas, de manera que para esta tesis vamos a asumir que los puntos de baja impedancia coinciden con los puntos de acupuntura.

Se ha demostrado que a través de estos puntos electropermeables se tiene menor resistencia eléctrica en la piel y mayor capacitancia que en el resto del cuerpo. También se piensa que la conducción eléctrica en el interior se realiza por una red de tejido conectivo. Se ha medido la capacitancia de la piel encontrándose que está comprendida entre unos rangos de unos pocos hasta cientos de nano faradios (nF).

En la siguiente figura 63 podemos ver el resultado del estudio realizado en cuatro sujetos donde se representa la relación entre las medidas de resistividad de la piel a lo largo de 60 minutos. Las curvas continuas muestran las medidas realizadas en puntos no electropermeables y las curvas a trazos indican las medidas en puntos de baja impedancia utilizados por nosotros en nuestro ensayo (Ptos. LU 9 y PC 8).[65][Agata P Colbert 2008]

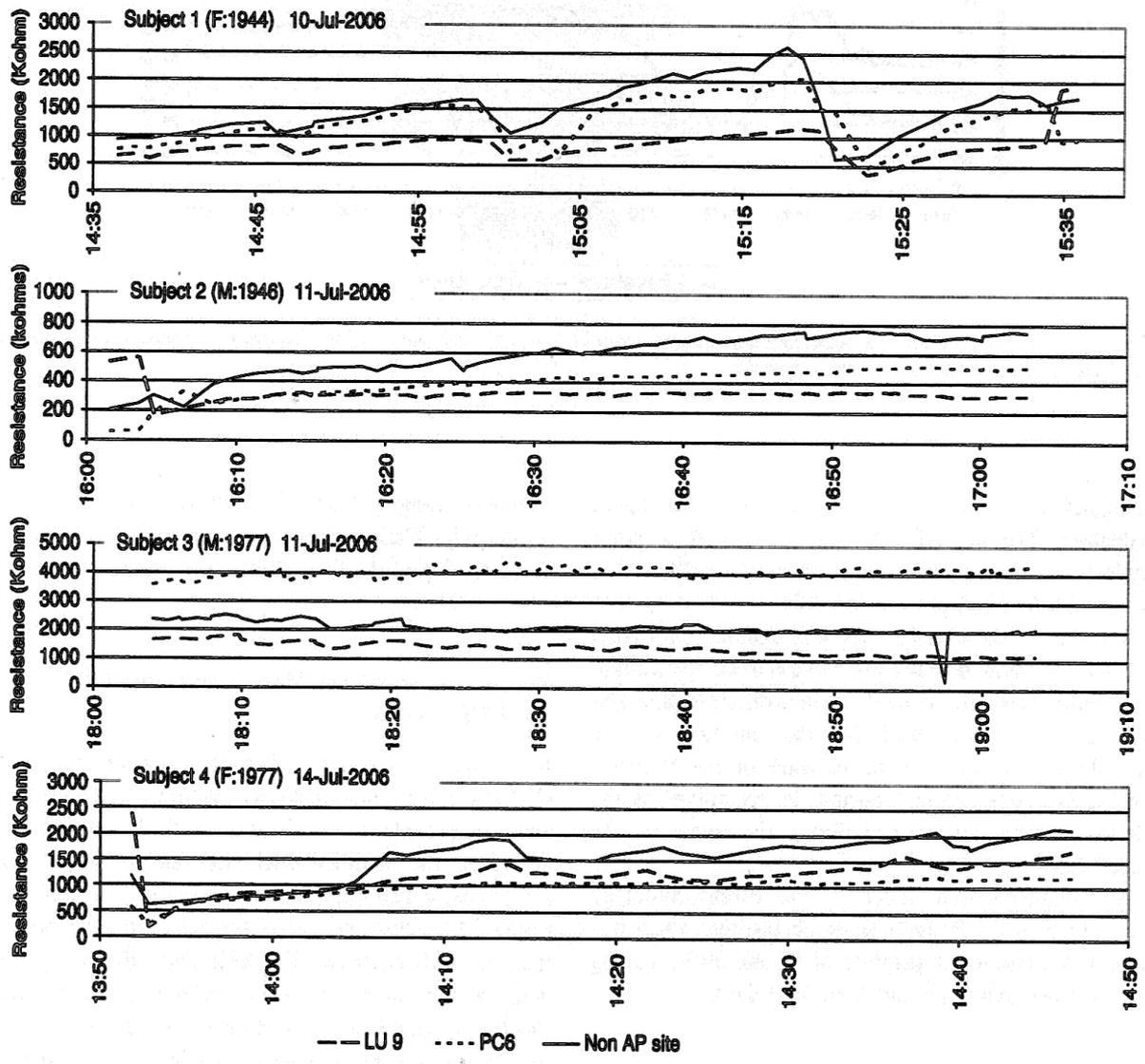


Figura 62 - Medidas de resistividad de la piel a lo largo de 60 minutos.

Para comprobar la fuente de corriente de nuestro estimulador, ya que la impedancia de la piel es el aspecto más importante a tener en cuenta en estimulación eléctrica.

Verificamos que la corriente debe permanecer constante a las variaciones de la impedancia del tejido, se realizaron varias simulaciones con la fuente de corriente variando la carga y la amplitud de la onda. Para cada nivel, la corriente no presento variaciones significativas a los cambios de carga utilizados para esta prueba.

6.2.6 Verificación con el EEG de la acción cerebral encontrada cuando se estimula el recorrido de circulación por la corriente de nuestro estimulador a través de la frecuencia básica .

Después de aplicar la microcorriente en unos recorridos antes mencionados sobre los puntos de baja impedancia encontrados, aparecen unas zonas de ondas lentas que experimentan entre cuatro y cinco veces subidas y bajadas de gradación de las ondas cerebrales, con un predominio en toda la región cerebral de ondas S.

En la (fig.63A) podemos ver las áreas del cerebro activadas antes de la aplicación de las microcorrientes y en la (fig.63B) después de la aplicación de las mismas en puntos de baja impedancia, manifestándose claramente el alcance a través de los puntos electropermeables encontrados.

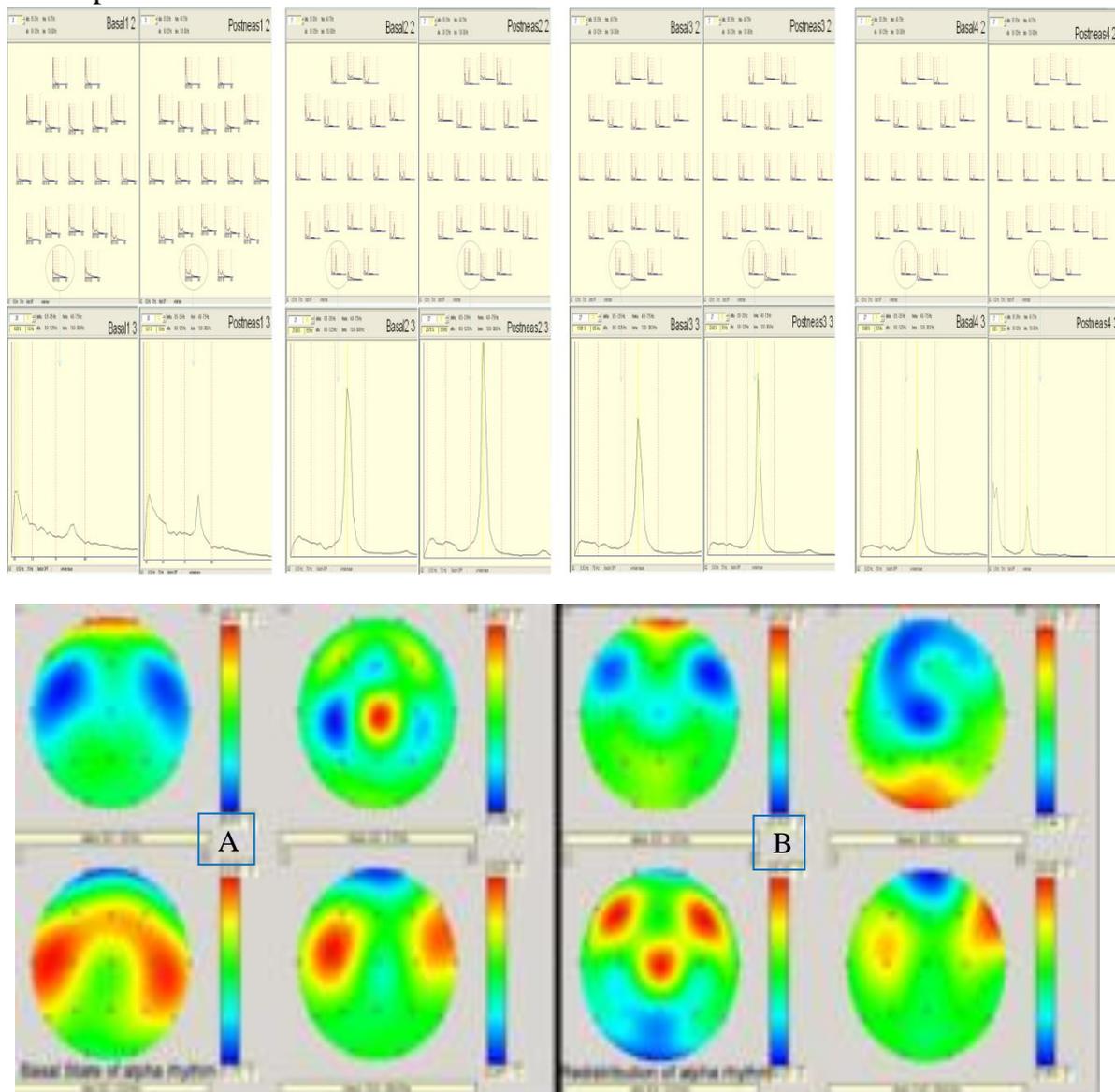
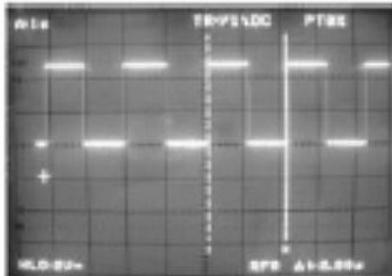
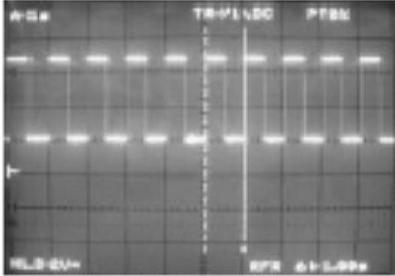


Figura 63
Áreas del cerebro activadas antes y después de la aplicación de las microcorrientes

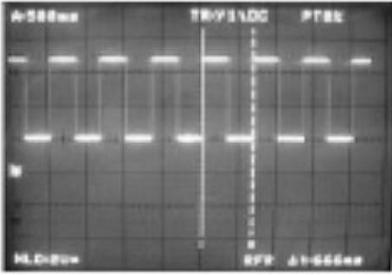
En esta figura 64 aparecen algunas de las verificaciones de frecuencia realizadas en un canal con respecto al electrodo de referencia. Estas imágenes están tomada directamente en la pantalla del osciloscopio .



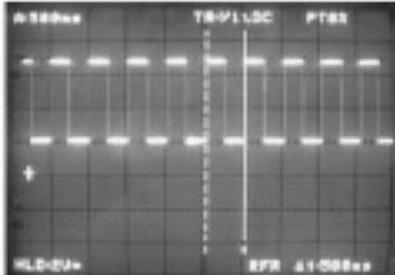
Frecuencia de 0,5 Hz



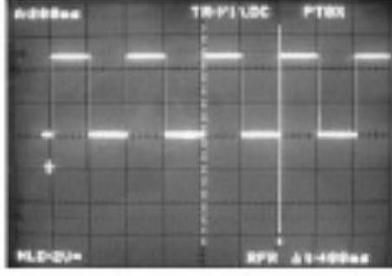
Frecuencia de 1 Hz



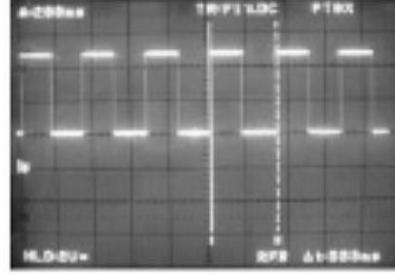
Frecuencia de 1,5 Hz



Frecuencia de 2 Hz



Frecuencia de 2,5 Hz



Frecuencia de 1 Hz

Figura 64
Algunas de las frecuencias básicas empleadas con respecto al electrodo de referencia

ii CASO ESTUDIO

■ INTRODUCCIÓN

Actualmente los pacientes que han sido tratados por la terapia HAART (High Active Antiretroviral Therapy) están en una segunda década de tratamiento con niveles de RNA de HIV en plasma (carga viral) por debajo de los límites de detección en los análisis clínicos.

Esta terapia ha sacado a tres millones de individuos en el mundo desarrollado de la enfermedad y de la muerte. Ahora los pacientes están disfrutando de un estilo de vida, sin casi efectos secundarios producidos por los medicamentos, con sólo una administración al día de la medicación.

Aunque se ha alcanzado un remarcable éxito con esta terapia, curar completamente la infección del HIV, es un objetivo que parece ser inalcanzable.

La mayor problemática para la erradicación del VIH con HAART es la persistencia del VIH latente en reservorios de células infectadas. Debido a la gran vida media de las células latentes, para limpiar completamente el reservorio necesitaríamos más de 60 años de HAART. Las células latentes infectadas son una permanente fuente de reactivación viral. (Casi siempre se observa un rebrote súbito de la carga viral en menos de dos semanas, después de la interrupción del HAART).

Las causas por las que HAART no puede eliminar totalmente el virus VIH-1 y este persiste en reservorios celulares pueden ser :

- 1 Pobre penetración de HAART.(santuarios como el sistema nervioso central)
- 2 "on going replication"
- 3 Latencia Viral.

1-Con nuestra terapéutica vamos a intentar mejorar esa pobre penetración de HAART en los santuarios, por eso nuestra terapéutica utiliza las microcorrientes superficiales, aplicadas a través del sistema nervioso.

2- Hay estudios recientes que indican que la reactivación viral de reservorios latentes es la principal fuente de la viremia residual en plasma. Por lo que "on going replication" esa continua persistencia del virus, no es solo debida a la continua completa replicación del virus. Ya que la intensificación del tratamiento con HAART no reduce esta viremia residual. (Siliciano R.F., et al. 2009 [64])

3-Nuestro estudio focalizará toda la atención en esta tercera causa, latencia viral. Ya que el virus reaparece desde la reactivación del estado de latencia de las células inmunes infectadas. Multiplicándose, dividiéndose a través de la proliferación homeostática desde la latencia. De estas células infectadas de larga vida nos centraremos en los Linfocitos T de memoria que contienen el virus.

HAART no es una panacea, los tratamientos deben de ser mantenidos por vida, el resultado de una pequeña interrupción del tratamiento desencadena en un rápido rebrote de la replicación del virus.

Aunque HAART ha ido siendo mejorado, teniendo un efecto más potente y siendo sobre todo mucho más tolerable, este continuo mejoramiento no puede continuar mas .Ya que no puede ir más allá de prolongar la supresión del virus por debajo de los límites standars de detección.(niveles entre 1 y 50 copias por mililitro en la mayoría de los pacientes)(on going viremia).

La pobre penetración de la mayoría de los antirretrovirales en el sistema nervioso central permite unos niveles de replicación viral y la salida del virus desde reservorios estables, lo que puede desencadenar una neuropatía.

A pesar de que la terapia HAART presenta unos valores muy bajos de toxicidad, muchos de estos compuestos modulan el metabolismo de la glucosa y de los lípidos. Con el tiempo esto puede significar una alteración en la producción de ATP .También curiosamente durante la primera interrupción de la transcripción (preintegración de latencia) hay una falta considerable de ATP en la célula infectada.

Gracias a este Tesis me gustaría actualizar la Terapéutica Metabólica (Sodi-Pallares D.[66]), como una posible forma de reactivación del virus, consiguiendo la purga de los reservorios del VIH latente. Pudiéndose considerar esta terapia como una nueva diana terapéutica para la posible erradicación del virus. Ya que esta reactivación del virus en presencia de HAART nos prevendría de nuevas infecciones.

El profesor Demetrio Sodi Pallares propuso que se investigara su tratamiento en enfermos de SIDA, ya que él trató a tres enfermos con SIDA en su etapa terminal y encontró mejorías sorprendentes. Su Terapéutica Metabólica consistía en una dieta selectiva iónica y en el barrido del cuerpo a través de la aplicación de campos magnéticos.

Existe una separata de la tesis, donde se reflejan los estudios realizados sobre las concentraciones de iones y micronutrientes en enfermos con el VIH-1, estos estudios nos llevan a aplicar la dieta de la Terapéutica Metabólica y también como mejoramos esta mediante el uso de nuestro estimulador, para aplicar microcorrientes en lugar de los campos magnéticos.

■ OBJETIVOS

1- Hipótesis y justificación del caso estudio

La hipótesis conceptual principal de este estudio fue formulada por el eminente profesor Demetrio Sodi Pallares en el año 1994 en su libro “Magnetoterapia y Tratamiento Metabólico”. [66]

En este libro el profesor Demetrio Sodi Pallares propone que se investigue su tratamiento en enfermos de SIDA, ya que él trató a tres enfermos con SIDA en su etapa terminal y encontró mejorías sorprendentes.

Propuso una dieta equilibrada baja en sodio y rica en potasio y la aplicación intravenosa de la solución GIK (glucosa, insulina y potasio) junto a campos magnéticos .

Debido a que en la legislación española (Real Decreto 223/2004) en el Artículo 2d, la solución GIK podría considerarse como medicamento por entenderse que es una forma farmacéutica y no queremos que se considere a nuestros casos de estudio como un ensayo clínico, por lo que queda para un futuro la realización del ensayo clínico con la aplicación de la solución GIK. También debido a que tiene que ser aplicada en vía venosa y contener dicha solución K Cl, el cual es un poco agresivo. Estimamos que en esta primera toma de contacto es una medida adecuada no aplicar la solución y así minimizar los riesgos al paciente.

Los fundamentos de esta terapéutica se basan en los canales iónicos que deben de ser explorados como causantes de muchas de las enfermedades, entre ellas las causadas por los virus. De todos es sabido como los canales iónicos modifican la permeabilidad de las membranas, las bombas iónicas, los procesos de enlace químico, los sistemas redox y la activación de la cascada de señales apoptóticas.

Nuestro objetivo será la latencia que tiene una importancia clínica como un mecanismo de persistencia en individuos tratados con drogas antirretrovirales.

La latencia del VIH-1 es una consecuencia de la fisiología normal de los linfocitos T CD4. El VIH latente explota la característica más fundamental del sistema inmune, que es la memoria inmunológica que reside en los linfocitos que reposan larga vida.

La persistencia viral de estos linfocitos de memoria no es solo propia del VIH-1, sino que el virus de Epstein-Barr establece una infección latente en linfocitos B de memoria. Esto permite al VEB persistir aún bajo una enorme respuesta inmune. Los VIH-1 latentes se encuentran principalmente en células T CD4 infectadas y este estado de latencia persistirá aunque la replicación viral sea completamente suprimida por drogas antirretrovirales.

Unas de las razones por las que hemos elegido estas células T CD4 de memoria es que son el reservorio más grande y mejor caracterizado. También la presencia de DNA proviral del VIH-1 latente en la población celular puede ser probado sin ninguna duda.

La latencia tiene una importancia clínica como un mecanismo de persistencia en individuos tratados con drogas antirretrovirales.

La latencia del VIH-1 es una consecuencia de la fisiología normal de los linfocitos T CD4. El VIH latente explota la característica más fundamental del sistema inmune, que es la memoria inmunológica que reside en los linfocitos que reposan en larga vida.

Se están estudiando varios métodos de estimulación que inducen unos grandes cambios en el estado de activación de una célula T. Esta reactivación (activación de los provirus latentes) son:

- La ligación de los receptores de células T por anti-CD3 anticuerpos.
- Citokinas (IL-7 y TNF- α)
- Mitogens (prostratin) .
- Euphorbia Hirta

Las terapias de reactivación viral son un gran potencial para la opción terapéutica de purgar los reservorios virales. Entre los agentes que hemos visto, los que se están investigando para reactivar HIV y erradicar esas células CD4 infectadas, está el prostratin pero se requiere una concentración muy elevada para activar el provirus por lo que tendría unos efectos secundarios muy negativos y en España la planta Euphorbia Hirta.

Pero estos posibles estímulos han sido probados insatisfactorios debido a la pérdida de potencia y una toxicidad inaceptable. Las grandes garantías de nuestra terapia son su falta de toxicidad y efectos secundarios.

También sabemos que es posible la reactivación por medio de la luz ultravioleta , la fiebre o el estrés psicológico.

Hemos encontrado trabajos de reactivación con microcorrientes eléctricas en otros virus en estado de latencia en células nerviosas como el VSH. El virus simple del herpes y el varicela-zóster pueden ser reactivados desde la latencia. Se han tratado dos métodos de reactivación, uno mediante estimulación solamente con electricidad y el otro mediante iontoforesis introduciendo agentes neuroactivos como la epinefrina.

Los estimuladores eléctricos utilizados en estos estudios utilizan corrientes de mayor amplitud a las utilizadas por nosotros entre 2 – 7 mA. y frecuencias de 10 Hz. con tiempos de 0,03- 0,06 mSg., voltajes desde 0,5 a 4 V. y electrodo bipolar para la reactivación. La reactivación del virus es lograda en periodos de tratamiento entre 28 – 34 días. (Chan KY. et al.1989.[11])

Pero hay una gran diferencia entre el VIH-1 y el VSH, ya que el VIH-1 esta replicándose continuamente, incluso durante prolongados periodos asintomáticos entre la primera infección y el desarrollo del SIDA. Pero esta persistencia del VIH-1 no es solo dependiente del estado de latencia. Aunque el VIH-1 puede establecer una infección latente en células T CD4 no es esencial para su persistencia.

1.1- Hipótesis concentraciones iónicas intracelulares y microcorrientes.

Con esta dieta baja en sodio trataremos de conseguir el principal objetivo, que es favorecer la polarización todo el tiempo que sea posible de la membrana plasmática de las células y evitar la creación de canales ión-virales, que alteran las concentraciones iónicas intracelulares.

Después de analizar anteriormente todos los estudios acerca de las concentraciones iónicas intracelulares en la infección del VIH-1, hemos visto como el efecto citopático inducido por el virus tienen lugar debido al aumento intracelular de la concentración de Na⁺. (Makutonina A 1996.[47])

Nuestro objetivo con la dieta que hemos propuesto a los enfermos infectados por el VIH, es disminuir la concentración del sodio extracelular y aumentar la del potasio en el mismo espacio extracelular, la barrera para la expulsión del sodio disminuirá, esto sucederá a costa de producir trabajo estimulando la bomba de sodio y potasio y dicho trabajo es gracias al ATP. Lo que significa que nuestra dieta baja en sodio y alta en potasio aumenta la síntesis del ATP. No hay que olvidar que cuando fluye el sodio al interior celular lo hace con fosfatos necesarios para la síntesis del ATP.

Esta es una de las principales hipótesis y trata sobre el efecto beneficioso que tiene nuestro tratamiento sobre la polarización de la membranas en la célula inmunitaria, impidiendo en primer lugar el matrimonio patológico de las dos glicoproteínas del virus , la gp-120 (glicoproteína de superficie encargada de reconocer la célula huésped) y la gp-41 (glicoproteína transmembrana encargada de la entrada del virus en la célula), con las células del sistema inmune (células dendríticas , macrófagos ,monocitos y linfocitos T). Y en segundo lugar evitar el estado de reserva latente del virus en las células inmunitarias.

Hay estudios in vitro que indican que si ponemos bajo la acción de microcorrientes de 50-100 μ A al VIH-1, se alteran sus capas externas de proteína y se impide la creación de la enzima, de esta manera el virus no es capaz de adherirse a los receptores de las células y su infectividad disminuye entre un 50 – 90 %.(Lyman W D,et al. 1996 [46])

El uso de estas microcorrientes contra el VIH-1, da lugar a la esperanza, ya que encontramos también estudios que indican que la sensibilidad a la estimulación eléctrica es mucho más alta en células crónicamente infectadas que en células no infectadas.(Kumagai E. et al 2004.[39]).

Si utilizamos para la estimulación eléctrica de células vivas corriente continua de pulsos de gran amplitud de voltaje, aparte de producir los fenómenos que vamos buscando en los cambios de estructura y permeabilidad de la membrana también obtenemos la rotura de la misma. Pero si utilizamos bajo potencial podemos regular la proliferación, producción de proteínas e inducción a la diferenciación (Tominaya M et al 2003 [67])

Los resultados de (Kumagai E. 2007 [40]) sugieren que el VIH-1 en la célula huésped es dañado directa o indirectamente por los efectos de la estimulación eléctrica, resultando una disminución de la infectividad del virus, por lo que se piensa que los ROS (especies reactivas de oxígeno) y el N O son inducidos por la estimulación eléctrica y son factores suficientemente importantes para inhibir la infección por el HIV-1.

La terapia HAART presenta unos valores muy bajos de toxicidad, pero muchos de sus componentes interfieren en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos. Con el paso de los años tomando esta medicación antirretroviral producirá déficit en la fabricación de ATP. También como veremos a continuación en la primera interrupción de la transcripción (preintegración de latencia) encontramos una falta muy grande de ATP en la célula infectada.

La preintegración es el fallo que se produce para importar el material genómico al núcleo y este es producido como hemos dicho por la falta de ATP (Bukrinsky MJ 1991 [8]). Aunque también deberíamos de considerar la latencia de postintegración, que significa que el fallo del virus en expresar su genoma tiene lugar después de su integración en el núcleo.

En la presente tesis nos vamos a centrar en el ADN del virus que no está integrado, por lo que aplicaremos las microcorrientes eléctricas pulsantes unidas a la dieta propuesta por el Dr. Sodi Pallares. Además con la incorporación a la Terapéutica Metabólica de la estimulación con microcorrientes superficiales aumentamos más esa producción de ATP.

Se ha demostrado que con la estimulación mediante microcorrientes eléctricas se aumentaba la producción de ATP un 500 %.(Cheng N.1982[13]). Según este artículo , la producción de ATP aumenta 5 veces con corrientes desde 50 μA hasta $10^3 \mu\text{A}$. Para corrientes eléctricas superiores a $10^3 \mu\text{A}$ ó lo que es lo mismo del rango de los miliamperios (mA), se nivela la producción de ATP y con corrientes de $5 \times 10^3 \mu\text{A}$ la producción de ATP se reduce. Esto ha sido un condicionante respecto a la elección de las microcorrientes eléctricas para la producción de ATP que hemos analizado, como hemos visto, elegimos un estimulador eléctrico dentro de estos límites para que tenga a la salida del electrodo los microamperios (μA) necesarios.

El efecto citopático del virus queda alterado en la latencia, este es anulado no produciéndose la apoptosis de la célula una vez que ha sido infectada.

Como hemos mencionado la infección viral aumenta la permeabilidad de la membrana favoreciendo la entrada de Na^+ y consecuentemente la entrada de Ca^{2+} . Normalmente el Ca^{2+} se bombea fuera de la célula a través de la ATP_{asa} y el intercambiador $3\text{Na}^+ / 1\text{Ca}^{2+}$.

La pérdida de ATP hace que no se pueda bombear Na^+ fuera de la célula y resulta en un aumento de la permeabilidad de la membrana. Esto supone un incremento en la concentración de Ca^{2+} , no pudiéndose concentrar todo en el aparato de Golgi. (Zegarra-Moran O(1999)[73])

Antes hemos visto como las proteínas del VIH alteran las concentraciones iónicas de las células infectadas a través de los canales iónicos-virales. (Fischer WB, et al.(2002)[19]) Produciendo un estrés oxidativo y alterando la polarización de la membrana celular, incrementando la permeabilidad iónica y consecuentemente cambiando el potencial de la membrana interna mitocondrial ($\Delta\Psi$). La bajada de este gradiente electroquímico ($\Delta\Psi$) desacopla la gran corriente de electrones y la expulsión de protones en el interior mitocondrial generando en la matriz mitocondrial un medio básico y un espacio intermembrana ácido. Este desacoplamiento del ion hidrógeno paulatinamente va desestabilizando por completo a la célula infectada, produciendo el rango de pH perfecto para la replicación del ARN mensajero. (Gonzalez ME, Carrasco L.(1998) [29])

La estimulación eléctrica de baja frecuencia, como hemos visto al evaluar el equipamiento eléctrico necesario, ($< 100\text{Hz}$, $4 - 32 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, y pulsos de $50-100 \mu\text{s}$) influye indirectamente o directamente en la señalización clásica del Ca^{2+} intracelular y esto promueve la proliferación y la diferenciación celular y puede estar asociado a una alteración provocada en la entrada de calcio a la célula.(Chang KA et al 2011[12]).

El virus altera la concentración del ion calcio y da lugar a una oxidación en las mitocondrias. Iniciado este proceso, ya no hay vuelta atrás para que una vez conseguida la replicación viral, finalizar con la apoptosis de la célula infectada, ya que a través del citocromo C se ha segregado la caspasa. Al aplicar estimulación eléctrica se experimenta un aumento de la segregación del citocromo C, se induce la apoptosis y hay un aumento en la actividad de las caspasas.(Mie M, 2008 [52])

El efecto citopático se produce, cuando se ha inducido la apoptosis en los linfocitos T, pero bajo HAART, se activa el rol de reservorio del VIH-1, es aquí donde la terapia actual antirretroviral deja de funcionar debido al proceso latente de la infección.

Aparte de la interrupción de la transcripción genética del virus, causante de la latencia. También podría la mitocondria jugar un rol importante en esa regulación de la extensión de la vida celular de los linfocitos T infectados en estado latente. Esta apoptosis sería regulada por la entrada y salida del Ca^{2+} de las mitocondrias, se sabe que este Ca^{2+} es el activador mas efectivo de las caspasas. Luego las anómalas concentraciones de Ca^{2+} podrían influir en la disminución de la apoptosis.

La mayoría de los antirretrovirales tienen una muy pobre penetración en el sistema nervioso y permiten unos niveles de replicación viral y la salida del virus desde reservorios estables.

Las terapias antilatenencia son muy dificultosas de realizar, ya que el acceso al tejido linfóide y a compartimentos anatómicos importantes en individuos sanos es dificultoso. También como veremos la posibilidad de fallar en la detección de un reservorio infectado y sobre todo no poder probar su erradicación. Aunque nosotros hemos centrado la atención en el órgano linfóide mayor del cuerpo, el aparato gastrointestinal, el cual se piensa que es el más grande reservorio en el cuerpo y los linfocitos se situaran en la “lámina propia de tejido conjuntivo reticulado en la mucosa del intestino” donde intentaremos hacer diana en los linfocitos T de memoria infectados.

Existe disponibilidad de modelos animales para estudios preliminares de pacientes infectados con HIV y están últimamente muy requeridos. Se trata del modelo ratón (médula roja-hígado-timo), es un modelo de ratones inmunodeficientes con un déficit en linfocitos T y B que son trasplantados con timo de humanos y tejido de hígado e inyectados con células madre hematopoyéticas, dando aumento a la repoblación sistémica con células T y B, monocitos - macrófagos y células dendríticas capaces de producir anticuerpos, activándose por células presentadoras de antígeno humanas, presentando una mayor histocompatibilidad con el humano. Estos ratones han estado usándose para estudiar la transmisión del HIV-1.

Pero la determinación de cuando este modelo puede ser usado con el HIV latente es una prioridad alta experimental no alcanzada. Por lo que actualmente no es requerido un modelo animal para el desarrollo de las futuras drogas antirretrovirales, porque un modelo animal puede no tener valor en el desarrollo y evaluación de las terapias antilatenencia.

Las terapias antilatenencia en humanos son muy difíciles de diseñar y ejecutar, porque los voluntarios de estos estudios tienen muy poco que ganar y la intervención del candidato tendrá una eficacia no probada y toxicidades inciertas.

La realización de la cuantificación del reservorio latente de HIV-1 en humanos pensamos que debería realizarse, aunque cuanto menos, uno entre un millón de Linfocitos T CD4 está infectado latentemente y hay aproximadamente 100 copias de provirus integrado por cada linfocito T CD4 infectado latentemente.

Para realizar esta medición utilizaremos el PCR del DNA proviral integrado el cual debe servir como un marcador para indicarnos los cambios en el reservorio latente. Sin embargo el pequeño tamaño de los reservorios y la imprecisión de las analíticas actuales requieren técnicas de mejora para determinar la efectividad de las intervenciones. Aunque un reservorio pudiera reducirse entre 10 a 100 veces su tamaño original, las células infectadas que quedaran no podrían visualizarse por encontrarse la cantidad por debajo del límite de detección del aparato.

1.2- Hipótesis control neural y microcorrientes..

Otra hipótesis para aplicar nuestras microcorrientes eléctricas es que al repartirse por el sistema nervioso pueden alcanzar células de microglía infectadas que posiblemente al encontrarse en un santuario como es el reservorio del sistema nervioso central, podrían alcanzarlas y reactivar el virus latente en estas células.

Con el fin de que el HAART no tenga que utilizarse de por vida hemos aplicado una estimulación al nervio vago aferente. Hemos elegido este tratamiento, ya que se ha estudiado mucho sobre la posible interacción a través del nervio vago de la modulación del sistema inmune. Hemos tratado con esto de alcanzar el tejido conectivo (lamina propia) que es una red de trabajo de finos mazos de nervios interconectados, los cuales hacen posible la inervación de la mucosa y fueron descritos en 1895 por (Cajal. S R Y[9]). Esta es la vía más próxima a la zona donde están los linfocitos infectados que queremos activar.

Hay muchos artículos sobre la contribución del nervio vago a la comunicación bidireccional entre el aparato gastrointestinal y el sistema nervioso central. He querido centrar mi atención en el aparato gastrointestinal aparte de ser la vía causante de la mayoría de la transmisión del VIH-1, en la lamina propia del intestino se encuentra el reservorio más grande de células latentes con el VIH-1 de todo el cuerpo.(Smith P D. et al. 2003 [65]).

La justificación de la posición en la colocación de los electrodos se ha realizado anteriormente, aunque queremos recalcar algunas razones que nos han llevado a elegir el posicionamiento del electrodo de referencia del estimulador en el nervio vago. Los nervios craneales son la mayor conexión entre el cerebro y el resto del cuerpo, en especial el nervio vago lleva información desde algunas vísceras hasta el cerebro y comanda la acción motora desde el cerebro al cuerpo mediante (Complex control loops) feedbackloops.

La actividad del nervio vago es significativamente suprimida en los pacientes con enfermedades autoinmunes. Nosotros trataremos de utilizar dentro del sistema nervioso autónomo, las sendas aferentes que llevan la información desde los órganos viscerales al sistema nervioso central entre estos órganos viscerales están el (timo ,bazo e intestino).

El nervio vago está envuelto en la regulación de las citoquinas y de mediadores proinflamatorios (alarminas y defensinas) que estimulan el sistema inmune. La mediación neural del nervio vago debe tener influencia directa en el timo e inhibe directamente el sistema nervioso simpático, disparando un estado fisiológico que promovería la función inmune. El nervio vago aferente muestra una influencia inhibitoria reduciendo la secreción de cortisol (cuando se segrega cortisol se suprime la función inmune).

En la otra dirección los linfocitos T son capaces de secretar linfoquinas como las interleuquinas, que actuarían como mediadores químicos directa o indirectamente retroalimentando el sistema nervioso central.

También existe la comunicación mediante las selectinas, que son unas clases de moléculas involucradas en la adhesión de los linfocitos, estas le ayudan a saber primero en que particular sitio de las células endoteliales se deben anclar y hacia donde deben migrar a través de un tejido.

El efecto de neuropéptidos y neurotransmisores en la migración y en el “homing” de los linfocitos en los órganos linfoides o en sitios de inflamación tiene evidencia neuroanatómica. Ya que los nódulos linfáticos y la médula roja reciben también un suministro neural aferente y deben de ser inervadas por neuronas sensoriales (suministro aferente). La regulación neural por el sistema simpático y sus neurotransmisores como la Epinefrina que juega un papel crítico en la inducción de estrés que provoca la redistribución de linfocitos (linfocitosis). Esto ya se sabía hace 100 años que las catecolaminas inducen esta linfocitosis caracterizada por un rápido (10 minutos) aumento en el nº de linfocitos en la circulación, este efecto es demasiado rápido y grande en magnitud para ser explicado por proliferación (los pulmones, el bazo, la médula roja y los nódulos linfáticos son todos posibles reservorios) y todos son servidos por fibras nerviosas. (Hori T, et al. 1995 [32])

El sistema inmunológico (sexto sentido) remite al cerebro la información de los aspectos celulares. La inmunidad es regulada cerebro-cortical y lateralmente de forma específica en la corteza cerebral izquierda.

La médula roja es inervada por fibras nerviosas que regulan la movilidad de las células hematopoyéticas. (si realizamos una simpaticostomia esta causa una gran reducción en el nº de leucocitos (1/3) y un gran aumento en la circulación. (*¡control de la adhesión de estas células en la médula roja!*). Este hallazgo sería de gran importancia en un futuro para también utilizar nuestra terapia para los reservorios de células madre infectadas en la médula roja.

Luego las fibras nerviosas pueden servir para alterar las propiedades adhesivas de las células perivasculares y quizá también las células hematopoyéticas. En pacientes con daño en la médula espinal muestran una pérdida en la actividad en la médula roja de los huesos, lo que nos indica que esta disminución tan grande en la actividad debe de ser consecuencia de la pérdida de input neural. (Jones PH, et al. 2002 [35])

Todo esto representaría una nueva hipótesis para un futuro y justificaría que nuestra terapia pueda aplicarse en la médula roja, ya que esta pueda servir de reservorio VIH-1 de células latentes de larga vida, pudiéndose ser llevadas y ejecutadas bajo el control de nuestro estimulador. Aunque podríamos aplicarla en mas partes de nuestro cuerpo, porque todas las regiones del cuerpo que son sitios potenciales de recibir invasión de microbios (piel, mucosa oral, tripa, peritoneo y pulmones) reciben una gran inervación neural aferente.

El role del nervio vago sensorial en transmitir la información *neuroinmune aferente* desde las vísceras y cavidades abdominales es compartido con todas las fibras sensoriales distribuidas a lo largo del cuerpo, como la piel, músculos y mucosas. Las cuales pueden responder a estímulos inmunológicos y transmitir esta información al sistema nervioso central.

Todavía no hay evidencia neuroanatómica de inervación parasimpática (vago eferente) del sistema inmune. ¿tiene que ser demostrado?. Aunque hay estudios en los cuales se dice que el sistema nervioso parasimpático (nervio vago eferente) juega un único y potente role en la regulación sistémica y en localizar los procesos inflamatorios (inhibiendo la producción por los macrófagos del TNF- α). Luego la estimulación del nervio vago eferente inhibe la producción de TNF- α (Saeed R.W. Et al, 2005[61]). Curiosamente también se está trabajando en reactivación del VIH-1 con citoquinas como la IL-7 y el TNF- α .

Nosotros estamos intentando reactivar el virus VIH-1 del reservorio latente, queremos ser coa-artífices de ello, participando en proliferación homeostática de las células T de memoria infectadas. Para ello suponemos que la reactivación del reservorio viral es la única fuente de la viremia residual en plasma.

1.3- Electrotaxia celular.

Los campos eléctricos son generados in-vivo en una gran variedad de procesos fisiológicos y patológicos. Por medio de la aplicación de un campo eléctrico con parámetros dentro del rango de los fisiológicos se puede inducir una migración celular (Electrotaxis).

Encontramos numerosos estudios que han aplicado estas microcorrientes eléctricas a las células que participan en la sanación de una herida como son las células epiteliales, endoteliales, fibroblastos y neutrófilos. En estas publicaciones se pone de manifiesto que mediante unos parámetros similares a las corrientes endógenas, por ejemplo cuando se rompe la barrera epitelial por una herida se ha medido un campo eléctrico endógeno orientado hacia la herida de entre (0,4 - 1,4) V/cm y una corriente de $\sim 1 \mu\text{A}$, luego mediante unos parámetros eléctricos similares podríamos aplicar una cinética también a los linfocitos y variar la posición de los mismos en los tejidos.

A continuación presentamos un figura de una publicación del 2008 en el The journal of Immunology de los autores Francis Lin and col. [20], que se denomina “Lymphocyte Electrotaxis In Vitro and In Vivo”

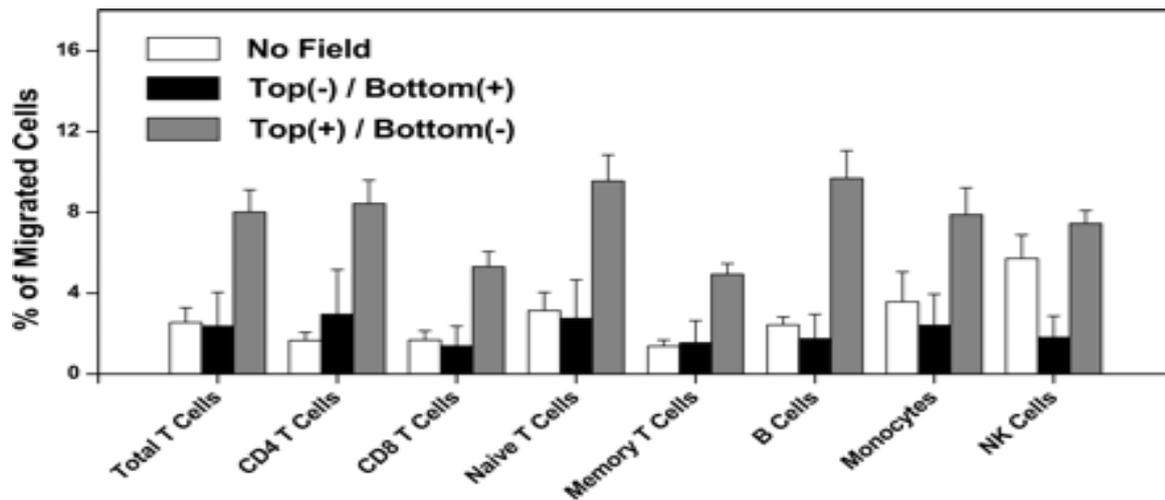


Figura 65 Electrotaxia y galvanotaxia de linfocitos

La aplicación de la electricidad para dirigir la migración celular está siendo probada en numerosos procesos fisiológicos como el guiado del crecimiento nervioso, sanación de heridas, metástasis y ahora se nos abre la puerta para su uso en la respuesta inmune.

La migración celular por quimotaxis y haptotaxis está muy bien caracterizada por los gradientes quimo-atrayentes, pero debemos de sumarle a estas la electrotaxis.

La figura anterior pone de manifiesto la respuesta que han experimentado las células T ante un campo eléctrico, evaluando su migración in vitro e in vivo. Estos resultados muestran que todas las clases de linfocitos, muestran electrotaxis ante la aplicación de un campo eléctrico. Esta electrotaxis que experimentan puede ser al menos tan eficiente como la quimotaxis hasta ahora conocida. Luego los campos eléctricos pueden controlar el movimiento de las células T in vivo.

Todas las variantes de linfocitos examinados, incluyendo las células T (naive y de memoria) migran hacia el cátodo. Este estudio ha demostrado que el posicionamiento de la célula inmune puede ser regulado in-vivo por la aplicación externa de un campo eléctrico.

En este estudio también se confirma que los campos eléctricos activan los procesos de señalización intracelular como la cascada de la Kinasa, que esta implicada en la señalización quimo-atrayente del receptor. Luego se puede decir que la electrotaxis y la Quimotaxis encajan en un programa conjunto de cinética celular.

1.4- Inactivación de virus mediante corrientes eléctricas.

También hemos encontrado algunos trabajos sobre la inactivación de virus mediante la electroestimulación. En la siguiente figura observamos, como el efecto citopático del virus fue reducido encontrándose evidencia de ello en mayor cantidad del 50 % de las muestras analizadas. (J.A Badylak, 1983). También el trabajo de (Lyman W. D. 1996)[46]contempla como la corriente eléctrica atenúa la infectividad del HIV.

FIG. 1. The timed current source apparatus used to inactivate PrV. The transparent acrylic cell on the left held the virus-dye mixture; the current source instrument can be seen on the right.

TABLE 1. Results of photoinactivation of PrV with various amounts of MB dye and electrical current

Trial	MB dye concn (M)	Electrical current (μ A)	Time (min) ^a	Original virus titer (TCID) ₅₀	Results	
					Titer (TCID) ₅₀	% Survival
1	10^{-5}	12	8	4×10^7	8.0×10^2	0.010
			12		8.0×10^2	0.010
			16.5		8.0×10^1	0.001
2	10^{-5}	0	8	4×10^7	1.0×10^4	0.125
			12		1.3×10^4	0.158
			16.5		8.0×10^2	0.010
3	2×10^{-5}	12	8	1.1×10^6	1.4×10^3	0.131
			12		1.2×10^3	0.112
			16.5		$<5.2 \times 10^{1b}$	$<0.005^b$
4	2×10^{-5}	0	8	1.1×10^6	8.0×10^3	0.741
			12		8.0×10^2	0.074
			16.5		5.3×10^2	0.048
5	10^{-4}	12	8	1.2×10^5	$<5.2 \times 10^{1b}$	$<0.043^b$
			12		0	0
			16.5		0	0
6	10^{-4}	0	8	1.2×10^5	7.2×10^2	0.600
			12		8.0×10^2	0.667
			16.5		1.1×10^3	0.869
7	0	12	8	1.3×10^6	4.7×10^5	35.778
			12		1.4×10^5	10.498
			16.5		6.3×10^5	48.523
8	10^{-4}	12	8	1.3×10^6	8.0×10^1	0.006
			12		5.2×10^1	0.004
			16.5		$<5.2 \times 10^{1b}$	$<0.004^b$
9	10^{-4}	0	8	1.3×10^6	1.4×10^2	0.011
			12		8.8×10^1	0.007
			16.5		1.3×10^2	0.009
10	10^{-4}	12	8	1.7×10^6	$<5.2 \times 10^{1b}$	$<0.003^b$
			12		0	0
			16.5		0	0

^a Length of time virus or virus-dye mixture was exposed to electrical current, light, or both.

^b Cytopathic effect was evident in less than 50% of the undiluted wells. Therefore, by the Reed-Muench method of calculating 50% endpoint titers (5), a more precise titer could not be obtained.

Figura 66 – Inactivación del virus mediante corriente eléctrica

1.5- Reactivación virus herpes mediante estimulación eléctrica.

Hay trabajos de reactivación con microcorrientes eléctricas en otros virus en estado de latencia en células nerviosas como el VSH. El virus simple del herpes y el varicela-zóster.

La reactivación del virus es lograda en periodos de tratamiento entre 28 – 34 días. (Green M T, et al.1981.[26])

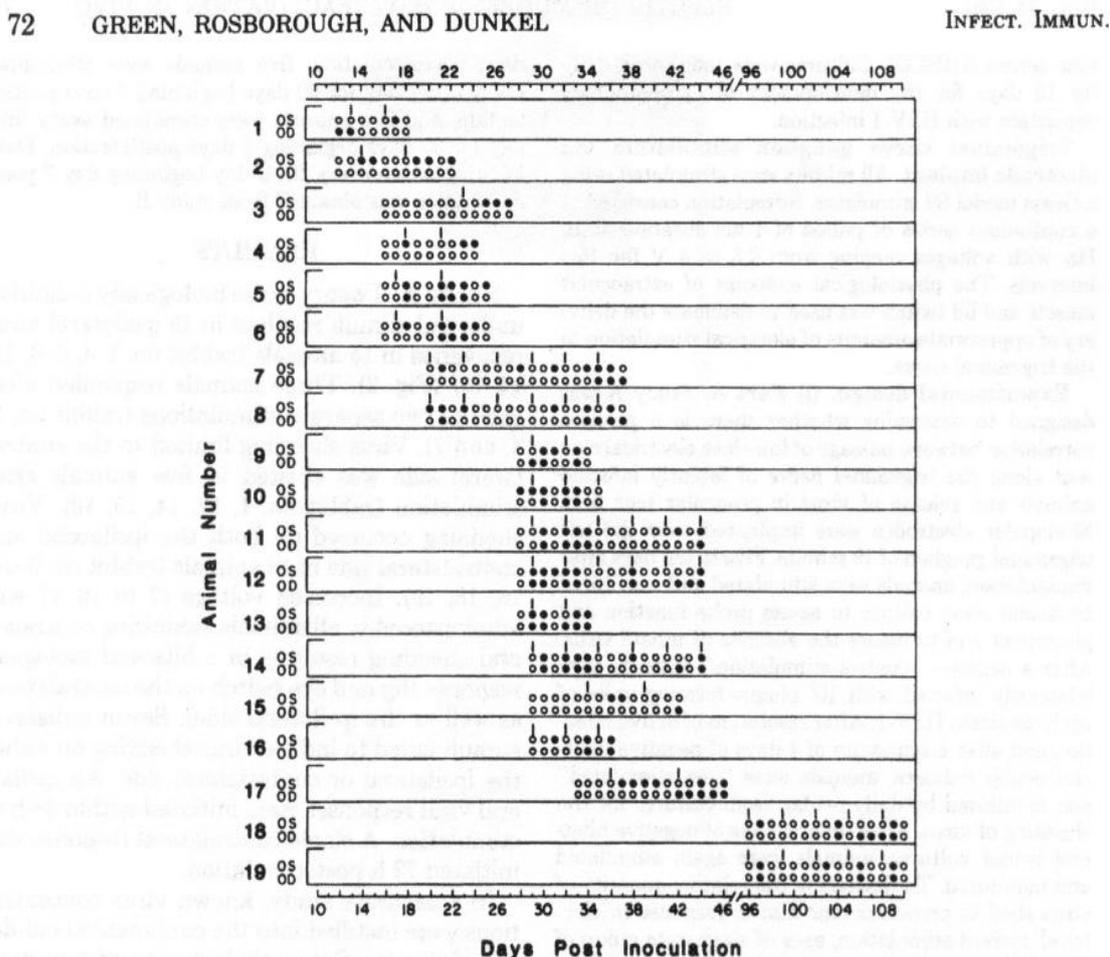


FIG. 2. Virus recovery from preocular tear film of rabbits after induction by electrical stimulation. Symbols: ●, positive virus cultures; ○, negative virus cultures; vertical line above dot indicates stimulation. Each dot represents one culture.

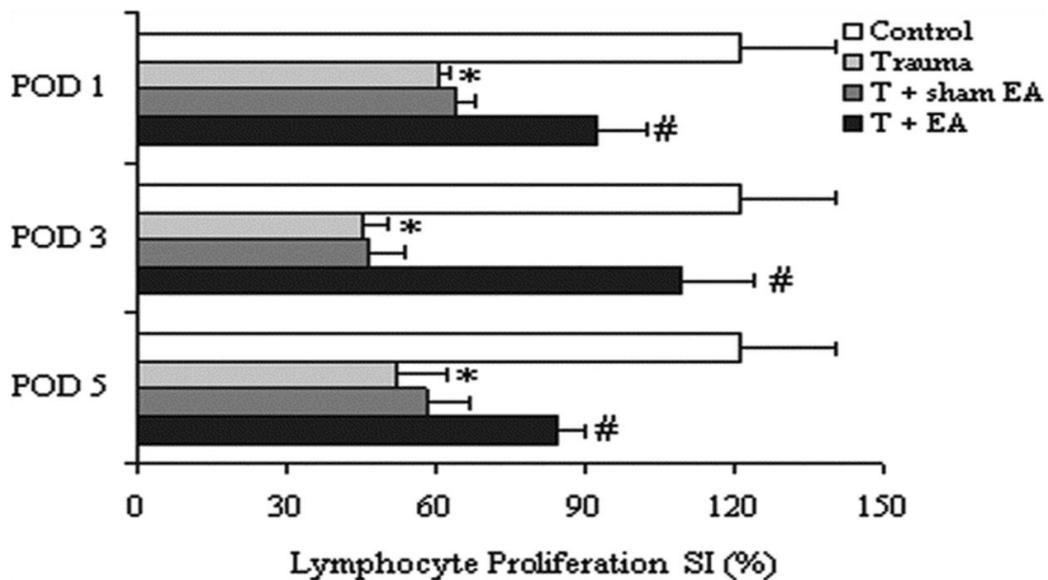
Figura 67- Reactivación virus del herpes mediante estimulación eléctricas

Aunque son completamente distintos el VIH-1 y el virus del herpes, presentamos este estudio de reactivación, ya que sobre el virus del herpes hay muchos trabajos, incluso algunos muy interesantes como el de (Spotswood L. et al. 1990)[67]. Nosotros también estamos intentando reactivar virus, pero el VIH-1 del reservorio latente,

1.6 Efecto de proliferación de linfocitos T mediante electroacupuntura

También existen muchos trabajos sobre la proliferación homeostática de los linfocitos mediante la electroacupuntura, por lo que nuestras células T de memoria infectadas también podrían modificar su cinética mediante la aplicación del Teas.

Figure 1. Effect of electroacupuncture (EA) on splenic T lymphocyte proliferation.



Wang K et al. *Anesth Analg* 2009;109:1666-1673

ANESTHESIA & ANALGESIA

©2009 by Lippincott Williams & Wilkins

Figure 68. Effect of electroacupuncture (EA) on splenic T lymphocyte proliferation. Lymphocyte proliferation to Con A (0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) was determined on postoperative days (PODs) 1, 3, and 5. Lymphocyte proliferation was expressed as a stimulation index (SI): $\text{SI} (\%) = \text{test group (optical density [OD] values)} / \text{control media (OD values)}$. Data are means \pm sd ($n = 8$ in each group including control group at each time point, i.e., on postoperative days 1, 3, and 5). * $P < 0.001$ trauma group versus control group; # $P < 0.001$ T + EA group versus trauma group.

■ MATERIALES Y METODOS (CASO ESTUDIO)

1-Sujetos.

Los sujetos infectados por el VIH-1 fueron reclutados en el Centro CAID del departamento de sanidad de la Comunidad de Madrid, se realizó protocolo clínico con código TEMESIDA/V1/11, cumpliendo los requisitos de pertinencia científica necesarios para su ejecución. Se pidieron los consentimientos informados por escrito a los pacientes después de ser informados personalmente sobre lo que se ha realizado.

La predeterminación del tamaño de la muestra se reflejó en el protocolo clínico, esta va a depender de los tipos de enfermos que encontremos y variará considerablemente en función del grado de evolución de la enfermedad, del tratamiento antirretroviral seguido, de su adherencia, así como del tiempo entre los tratamientos. Aunque realmente el número de enfermos necesarios para este ensayo fue muy subjetivo, ya que pese a todos los condicionantes estadísticos, no se ha podido terminar el trabajo como reflejó el protocolo.

Nos centramos en pacientes que estuvieran sometidos a un tratamiento antirretroviral ortodoxo convencional (HAART) y que su nivel de carga viral antes de nuestro tratamiento esté por debajo de la sensibilidad del método de análisis.

También intentamos incorporar algún paciente (Long term non progresor) paciente que a pesar de haber sido infectados por el VIH, están más de 5 años libres de la enfermedad y no son tratados todavía con tratamiento antirretroviral, pero no fue posible al final.

Inicialmente se recogió en el proyecto un diseño secuencial, en el que no fue estrictamente necesario determinar un número prefijado de enfermos. En este tipo de ensayo, se plasmó que se efectuarían los cálculos a medida que se iban recogiendo casos y se compararía el resultado obtenido hasta ese momento con dos umbrales, superados los cuales se detiene el experimento.

En esta metodología estadística secuencial con el fin de mantener la probabilidad global de error tipo I en un valor inferior al prefijado (0,05), sería necesario que se utilice un nivel de significación menor para cada paso, como un contraste múltiple de hipótesis.

Inicialmente también se fijó la regla de parada, cuando los datos acumulados hasta ese momento mostraran una diferencia estadísticamente significativa a un nivel de probabilidad tal, que garantizara el objetivo global de $\delta_1 \geq$ un aumento (H1) del 15 % en el nº absoluto de carga proviral de los enfermos tratados con nuestra terapia frente a la control.

Como objetivo global $\delta 2 \geq$ un aumento (H2) mayor de 0,5 en escala logarítmica en base 10 de la carga proviral sobre los enfermos control solo tratados con la terapia antirretroviral ortodoxa (HAART).

En esta tesis mostramos un microestudio comparado con los que se realizan, solo se pudo lograr que terminaran el estudio nueve pacientes, de los cuales solo cinco fueron capaces de mostrar un nivel óptimo de replicación del virus. La población diana fue inicialmente de 16 sujetos, aunque la que se utilizó para extrapolar los resultados desde el punto de vista estadístico, ha sido una población de nueve. En el protocolo se consideró empezar el estudio con un tamaño de muestra de 14 sujetos, siete sujetos por grupo.

2-Criterios de inclusión.

Los pacientes estarán afectados por el VIH y siguiendo un tratamiento antirretroviral (HAART) continuamente por al menos los dos últimos dos años y con niveles de RNA viral en plasma menores de 50 copias/ml, siendo este el límite de detección inicialmente propuesto. También estuvieron incluidos los pacientes (long term non progressors) pacientes que aún teniendo la infección del VIH, no han necesitado todavía el tratamiento antirretroviral y puede que no lo necesiten en 5 años. En el caso de ser niños se necesitaría el consentimiento informado por sustitución de padres o representantes legales en el caso de menores de 12 años, y el consentimiento informado de estos si tienen 12 años o más. Aunque no hubo ningún participante de estas características. Sobre todo se limitó la edad de participación a menores de 70 años. Tuvieron que estar capacitados para dar el consentimiento informado por escrito para participar en el estudio.

3- Criterios de exclusión

Todos aquellos aspectos que impidan al paciente formar parte del estudio comprender las normas del mismo, seguir las instrucciones que se den, etc.

En mujeres gestantes o en periodo de lactancia se aplicará criterio exclusión.

4- Criterios de retirada

Todos los pacientes que completaron el estudio estuvieron siempre dentro de los márgenes de seguridad y límites del consentimiento informado.

No hubo ningún caso de incompatibilidad de la medicación HAART con la comida de la dieta propuesta, no presentándose ningún deterioro de su situación clínica o patología grave.

Hubo cinco pacientes que abandonaron el tratamiento a requerimiento propio, algunos de ellos por incumplimiento de la terapéutica.

Inicialmente estos pacientes fueron escogidos como grupo control y aunque el protocolo recogía que estos pacientes que no recibieran el tratamiento activo (control), podrían ser sustituidos por otros pacientes, tabulando aparte en el análisis estadístico. No hubo necesidad de ello, ya que no fue posible su sustitución.

5- Tipo de estudio

Una vez que se selecciono la muestra sobre la población de enfermos, el personal facultativo del centro realizó la asignación de los grupos de manera aleatoria balanceada, pero sin estratificar la aleatorización .

A los integrantes del grupo donde aplicamos la terapéutica por campos eléctricos pulsantes se denominó grupo experimental. Al otro grupo (grupo control) a este grupo se les trataría con placebo, en nuestro caso, el prototipo de estimulador eléctrico inicialmente utilizado le dotamos de un interruptor escondido que sería accionado antes de aplicar la sesión de microcorrientes superficiales.

Por lo que, el ensayo empezó realizándose con el enmascaramiento a los pacientes y el personal facultativo tuvo especial cuidado con el efecto Hawthorne (efecto cuidados), el cual es independiente del efecto placebo y de la influencia terapéutica. Tratando de dispensar las atenciones médicas a ambos grupos lo más equilibradas posible.

Resultado imposible enmascarar también a los clínicos, monitores de ensayo y evaluadores de resultados, encuentro una gran dificultad, ya que nuestra terapia no es como el caso de un medicamento en el cual puede llevar o no la sustancia activa y aparentemente el enmascaramiento es muy sencillo. En mi posición de monitor y evaluador he encontrando el enmascaramiento imposible de realizar.

Luego este estudio fue definido como un estudio concurrente con asignación aleatoria balanceada y enmascaramiento solo a pacientes.

6- Seguimiento de pacientes

El personal facultativo verificó que la duración de las consultas y el número de pruebas diagnósticas fueran iguales para todos los pacientes. Pese al gran compromiso de este personal totalmente involucrado, el número de abandonos ha sido clave en este ensayo. No se ha podido sustituir estos, al no disponer de un tamaño muestral grande y no poder incentivarlos materialmente. Al final debido a estos abandonos de parte del grupo control, se tuvo que suprimir el mismo. Por lo que la significancia estadística bajo notablemente.

En lugar de los campos magnéticos, el Dr. Yoshio Manaka inventó los “Ion pumping cords” aparatos capaces de realizar un bombeo de iones en un área afectada hasta restablecer su concentración y así conseguir eliminar la dolencia.

El aparato que hemos utilizado esta basado en los “Ion pumping cords” (Manaka Y. et al. 2004[48]). En este libro se especifican los caminos de las corrientes eléctricas, aplicadas superficialmente en los puntos electropermeables, las rutas que siguen estas corrientes que alcanzan el tejido conectivo y mediante este, el liquido intersticial y los vasos sanguíneos, que llegaran a las células. En nuestro caso los linfocitos T de memoria en estadio de latencia. Esperando que algún día se verifique que mediante nuestra dieta y la aplicación de las microcorrientes lleguemos a su reactivación, gracias a la consecución del equilibrio iónico necesario para cambiar las concentraciones de los iones intracelulares de estas células reservorio.

Tratamiento		
Aplicación	Microcorrientes eléctricas	Programación por sesión
1ª semana	1 sesiones ¾ h + 1 sesiones ¾ h	Programas 1(23') + 2(23')
2ª semana	1 sesiones ¾ h + 1 sesiones ¾ h	Programas 2(23') + 3(23')
3ª semana	1 sesiones ¾ h + 1 sesiones ¾ h	Programas 1(23') + 2(23')
4ª semana	1 sesiones ¾ h + 1 sesiones ¾ h	Programas 2(23') + 3(23')
5ª semana	1 sesiones ¾ h + 1 sesiones ¾ h	Programas 1(23') + 2(23')
6ª semana	1 sesiones ¾ h + 1 sesiones ¾ h	Programas 2(23') + 3(23')
7ª semana	1 sesiones ¾ h + 1 sesiones ¾ h	Programas 1(23') + 2(23')
8ª semana	1 sesiones ¾ h + 1 sesiones ¾ h	Programas 2(23') + 3(23')

Figura 70 - Programación sesiones y tratamiento

9- Dosis- Terapéutica

Para determinar el tiempo de exposición tomamos como referencia 45 minutos. Por ser el tiempo eficaz utilizado con el dispositivo. Cada uno de los enfermos recibió al menos dos sesiones a la semana de forma alternante. Después de cada sesión se rellenó una plantilla de cumplimiento del tratamiento.

El tratamiento tiene obligatoriamente que ser percibido por el paciente de forma agradable, el criterio determinante de la dosis será la sensibilidad del paciente, el cual no deberá percibir en ningún caso sensación de escozor, quemazón o cualquier otra sensación. Por lo tanto, lo que percibe el paciente es lo primero que hay que tener en cuenta. Éste no puede llegar a percibir ninguna de dichas sensaciones como dosis mínima.

En esta dosis mínima también hemos tenido en cuenta, que según el estado de la piel del paciente (sequedad, espesor, vello, inervación, erosiones, cicatrices), pueden percibirse sensaciones diferentes. Por lo tanto la dosis mínima depende de cada paciente, esta siempre ha sido ajustada para cada sesión, bajando la amplitud de la onda. Siendo la amplitud máxima de pulso aplicado de 9 v.

Siempre la frecuencia de las microcorrientes que hemos aplicado han sido en todo momento frecuencias menores a la calculada para la frecuencia de resonancia del ion calcio.

Este cálculo lo podemos ver a continuación:

Vamos a calcular la frecuencia de este ión ciclotrón, partiendo de la relación carga / masa del Ca^{2+}

$$q / m = 4,81 \times 10^{-6} \text{ Culombios / Kg}$$

$$f_c = (1/2\pi) (q/m) (Bo)$$

Sustituyendo en la formula. f_c / Bo de 0,76 (Hz/ μT)

Si suponemos un campo geomagnético Bo de 41 μT (campo total resultante de la componente horizontal y vertical) Nos sale una frecuencia de ión ciclotrón para estimular al Ca^{2+} de :

$$f_c = 31,16 \text{ Hz.}$$

Luego utilizando unas microcorrientes eléctricas que estuvieran por debajo de la frecuencia de 31,16 Hz, podríamos garantizar la no perturbación del Ca^{2+} .

No queremos influir en el ion Ca^{2+} , ya que es responsable de numerosas cascadas de señalización como segundo mensajero.

10- Áreas de aplicación

Las áreas de aplicación están basadas en el estudio presentado en el apartado anterior capítulo 6, sobre los puntos electropermeables. Hemos elegido seis puntos en cada muñeca y tobillo tomando como referencia estudios de medicina oriental en los que asemejan estos recorridos interiores del cuerpo, que presentan una alta conductancia eléctrica y una alta densidad en Gap-Junctions con canales denominados meridianos.

Se han agrupado estos puntos mediante una especie de guantes y calcetines elásticos (fig 71) que facilitan su posición plana sobre la piel, la presión ejercida sobre la piel no ha sido medida, asumiéndose que está ha permanecido constante durante el tratamiento. La piel en los puntos de aplicación fue limpiada con alcohol etílico y se permitió que seicara antes de la aplicación. La colocación del electrodo de referencia en el nervio vago fue también descrita en dicho capítulo (fig.54B) posicionándose este mediante electrodo con adhesivo.



Figura 71- Dispositivos de agrupamiento de electrodos

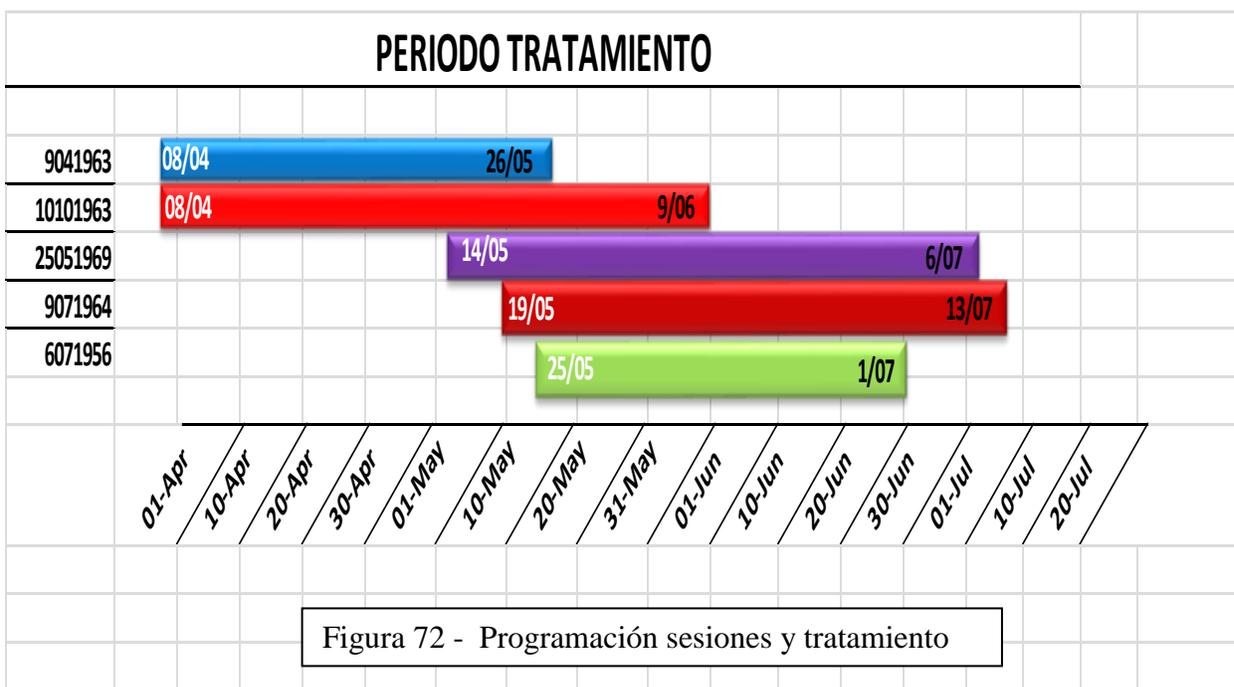
Nuestra terapéutica ha sido aplicada en estricta colaboración con médicos especialistas. Como norma general, hemos elegido unas dosis débiles, con tiempos cortos de 45 minutos o inferiores. En casos de individuos de mucha masa corporal, emplearemos dosis normales o altas, con tiempos más largos de tratamiento, alrededor de 60 minutos.

Hemos aplicado un mínimo de 16 sesiones con una duración máxima de cada sesión de aproximadamente una hora diaria, la frecuencia de las sesiones ha sido generalmente de una vez por día o, eventualmente, dos veces el primer día y de al menos de dos días a la semana variable en función del paciente.

11- Dosificación

La dosificación viene condicionada por, el tamaño de los electrodos, la intensidad de la corriente, el tiempo de aplicación y la tolerancia individual del paciente. Se ha tenido en cuenta la norma UNE 20-613-92 [69] y la UNE EN 60601-1 [70], así como nuestro principio fundamental que dice: «el tratamiento deberá ser percibido por el paciente de forma agradable», el criterio determinante de la dosis será la sensibilidad del paciente, el cual no deberá percibir en ningún caso sensación de escozor, quemazón o cualquier otra manifestación dolorosa. Por lo tanto, ha sido la sensación que percibe el paciente lo primero que hemos tenido en cuenta. Éste puede percibir dicha sensación como dosis mínima, normal o fuerte (cercana a una sensación molesta o dolorosa).

Hemos tenido en cuenta que, según el estado de la piel del paciente (sequedad, espesor, vello, erosiones, cicatrices), pueden percibirse sensaciones diferentes. También, por efecto de la acomodación, podemos tener una disminución en la percepción de la corriente.



■ RESULTADOS

Se inicio el estudio sobre una población diana de 16 sujetos, los cuales estuvieron bajo medicación HAART por más de dos años antes de empezar el tratamiento y con carga viral menor de 50 copias / ml. en esos dos años.

Nueve sujetos iniciaron el presente estudio de los cuales solo cinco completaron el tratamiento, ninguno de los cuales sufrió ningún evento adverso durante el mismo. En la figura siguiente se muestra el periodo de tratamiento de estos cinco sujetos.

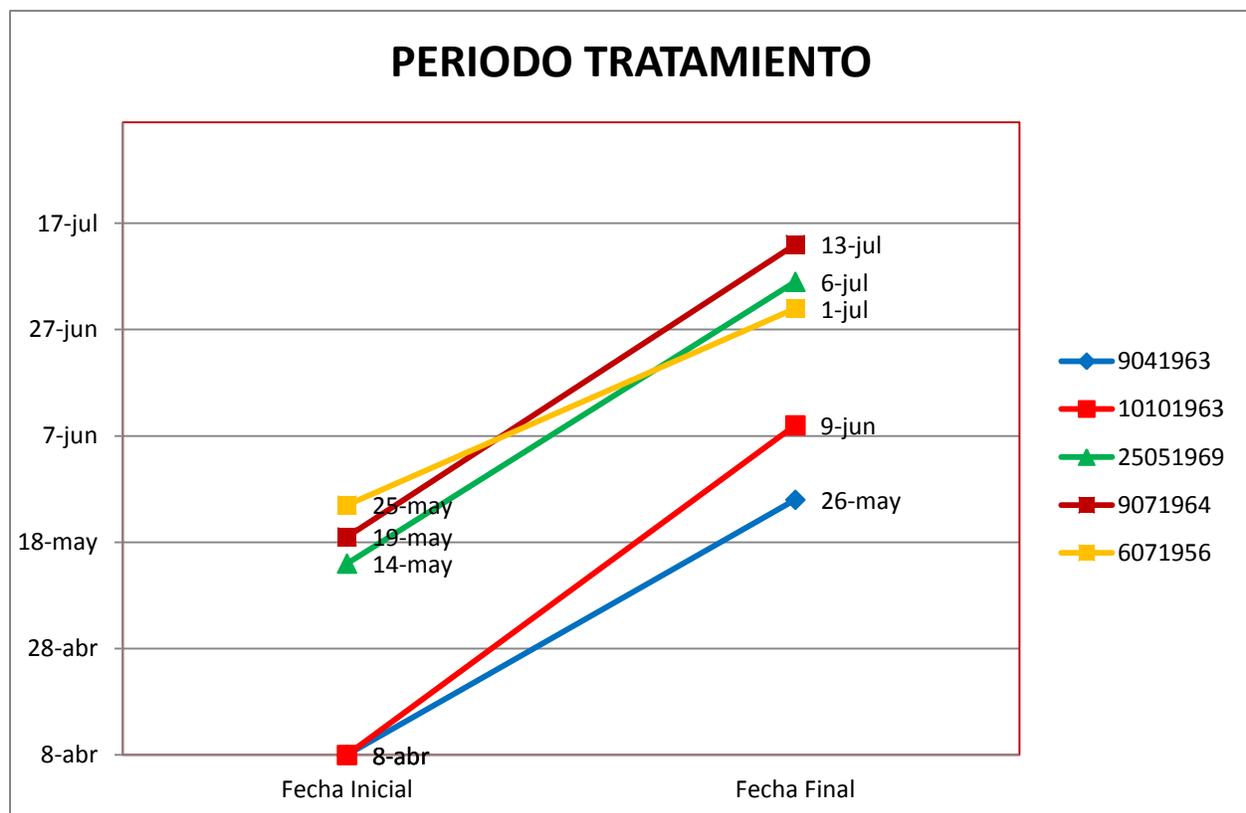


Figura 73- Periodos de tratamiento

Estos cinco sujetos que terminaron el tratamiento estuvieron siempre con carga viral menor que la sensibilidad del PCR utilizado que fue de 35 copias/ml. Por lo que se pudo realizar la aproximación de que todo ese nivel de ARN del VIH-1 encontrado en plasma provenía de los reservorios latentes.

En la siguiente figura representamos la carga viral de estos cinco sujetos antes y después del tratamiento.

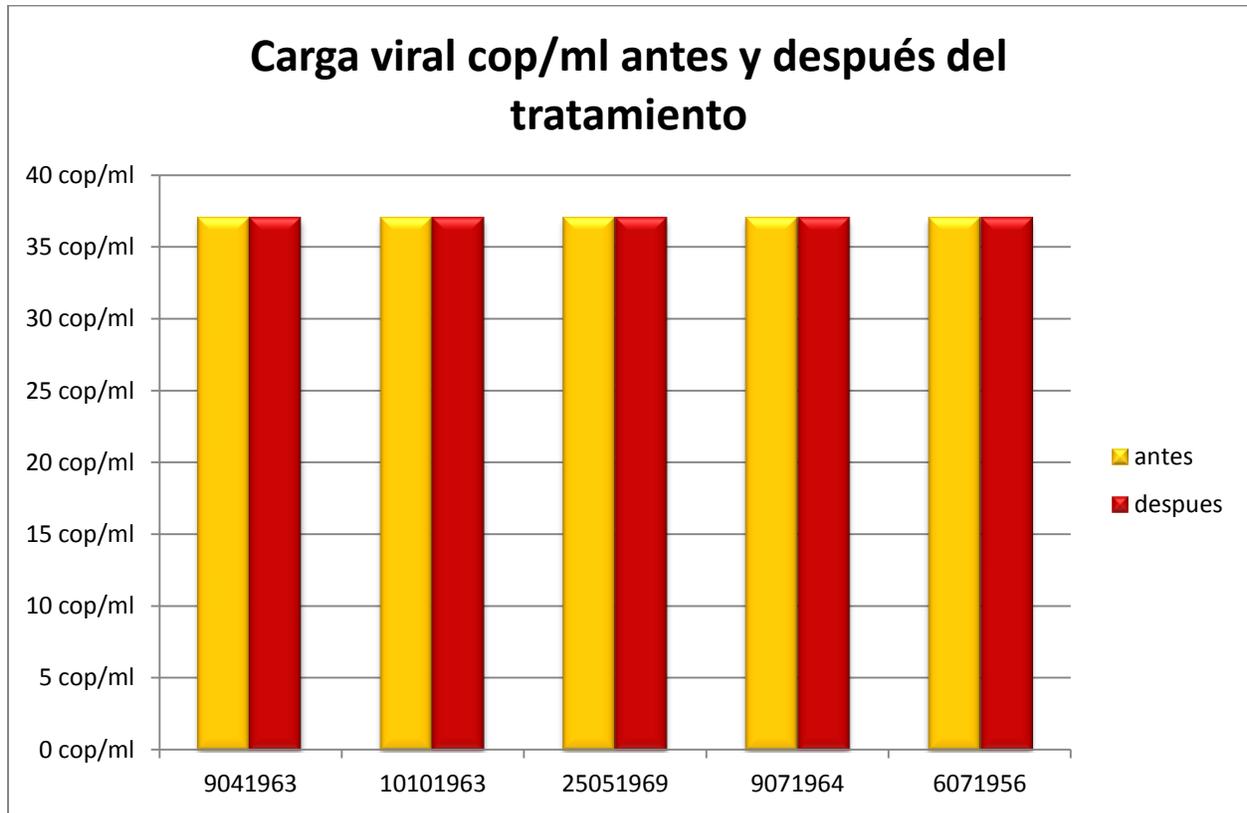


Figura 74- Carga viral antes y después del tratamiento

La cuantificación del ADN procedente del VIH-1 proviral fue realizado usando un equipo ABBOTT m 2000 rt con tecnología PCR TaqMan LTR real-time, se utilizó una secuencia Abi Prism 7200 de la compañía Applied Biosystems. El protocolo de esta secuencia para un volumen por tubo de 50 μ L fue:

URACIL-DNA GLYCOSYLASA (UNG)	0,625 μ L
PRIMER LTR 131 (20 μ M)	1,25 μ L
PRIMER LTR 152 (20 μ M)	1,25 μ L
SONDA LTR 1 (10 μ M)	1,25 μ L
SONDA LTR 1 (10 μ M)	1,25 μ L
MASTER MIX	25 μ L
VOLUMEN TOTAL DE MUESTRA	29,5 μ L

Se dispense 29,5 μL de mezcla a tubo de placa hasta añadir al tubo placa 20,7 μL
 $(V \text{ DNA} = 2500 / \text{DNA} + \text{H}_2\text{O} = 20,7 \mu\text{L} - V \text{ DNA}) = 20,7 \mu\text{L}$.

La diferencia en amplificación de estos primers degenerados se comparó con un análisis de distribución de POISSON de unas curvas estandars pertenecientes a la línea celular 8E5, que es la utilizada como estandars para el VIH-1. Esta línea celular se usa, ya que contiene una sola copia defectuosa del VIH-1 DNA proviral. A continuación especificamos el protocolo seguido :

Control negativo	1.000.000 pbls individuo sano
STD1 (1.000.000 copias ADN)	1.000.000 células 8E5
STD2 (100.000 copias ADN)	100.000 células 8E5
STD3 (10.000 copias ADN)	10.000 células 8E5
STD4 (1.000 copias ADN)	1.000 células 8E5
STD5 (100 copias ADN)	100 células 8E5

Estándares utilizados en la carga

Descongelamos las células 8E5 las contamos y las sembramos para expansión en un cultivo en estufa por 3 días. Después las lavamos con pbs 1 x estéril y las contamos. Se extraen las Pbls de sangre total al tercer día de cultivo de la línea 8E5. Después de lavadas y contadas las células, se ponen tanto las células 8E5 como las pbls sanas a una concentración de 1.000.000/ml en pbs 1 x estéril.

Control negativo	1.000.000 pbls individuo sano 1 ml
STD1	1.000.000 células 8E5 1 ml
STD2	100.000 células 8E5 + 900.000 pbls (100 μl cél 8E5 + 900 μl pbls) 1ml
STD3	(10 μl cél 8E5 + 990 μl pbls) 1ml
STD4	(1 μl cél 8E5 + 999 μl pbls) 1ml
STD5	(0,1 μl cél 8E5 + 999,9 μl pbls) 1ml

Repetimos los estándares para 3 ml, separándolas en 3 tubos de 1ml cada uno y volvemos a realizarlos para 4ml. separándolas en 4 tubos de 1 ml cada uno.

Realizamos luego la extracción del ADN y obtenemos un volumen de 100 μ l, y asumimos que si ponemos 5 μ l en la reacción de pcr estamos poniendo 50.000 copias de ADN y ajustamos el resto del estandar dependiendo de la cantidad de ADN del STD1.

STD 1---- 50.000cop.----5 μ l-----4,70 log . Para la reacción de PCR ponemos 1000 ngr que es 1 μ gr de DNA de las muestras y del control negativo.

El protocolo anterior queda reflejado en la siguiente tabla de diluciones de los estandares que introdujimos en los diferentes pocillos del plato de 12 x 8 en el PCR.

A	STD1		10101963 (b)		27101972	
	Muestra	5 μ l	Muestra	8,6 μ l	Muestra	8,1 μ l
	Agua	15,7 μ l	Agua	12,1 μ l	Agua	12,6 μ l
B	STD2		25051969 (a)		2011973	
	Muestra	5 μ l	Muestra	4,4 μ l	Muestra	5,1 μ l
	Agua	15,7 μ l	Agua	16,3 μ l	Agua	15,6 μ l
C	STD3		25051969 (b)		228107 C+	
	Muestra	5 μ l	Muestra	5 μ l	Muestra	5,1 μ l
	Agua	15,7 μ l	Agua	15,7 μ l	Agua	15,6 μ l
D	STD4		09071964 (a)		C	
	Muestra	5 μ l	Muestra	4,4 μ l	Muestra	2,5 μ l
	Agua	15,7 μ l	Agua	16,3 μ l	Agua	18,2 μ l
E	STD5		09071964 (b)		Agua	
	Muestra	5 μ l	Muestra	4,5 μ l	20,7 μ l	
	Agua	15,7 μ l	Agua	16,2 μ l		
F	09041963 (a)		06071956 (a)			
	Muestra	6,7 μ l	Muestra	5,7 μ l		
	Agua	14 μ l	Agua	15 μ l		
G	09041963 (b)		06071956 (b)			
	Muestra	7,1 μ l	Muestra	5,6 μ l		
	Agua	13,6 μ l	Agua	15,1 μ l		
H	10101963 (a)		21031972			
	Muestra	6,25 μ l	Muestra	9,2 μ l		
	Agua	14,4 μ l	Agua	11,5 μ l		

UNG	15 µl
LTR 131	30 µl
LTR 152	30 µl
LTR sonda	30 µl
M. MIX	600 µl

Total Vol. MIX (c/ pocillo)	29,3 µl
-----------------------------	---------

Los resultados obtenidos después de introducir el plato anterior con las diluciones en cada pocillo en la PCR.

Well	Sample ID	Assay Name	Calibrator Levels/ Concentrations	Result/Unit Interpretation	Flags
A1	STD1	DNA proviral VIH-1 LDA	4,7	51.730 Copies/µg	LDA
B1	STD2	DNA proviral VIH-1 LDA	3,7	5.919 Copies/µg	LDA
C1	STD3	DNA proviral VIH-1 LDA	2,7	409 Copies/µg	LDA
D1	STD4	DNA proviral VIH-1 LDA	1,7	40 Copies/µg	LDA
E1	STD5	DNA proviral VIH-1 LDA	0,7	6 Copies/µg	LDA
			LINV		
F1	09041963(a)	DNA proviral VIH-1 LDA	4m-2, 3,8m-1	Not detected Target not detected	LDA
G1	09041963(b)	DNA proviral VIH-1 LDA	4m-2, 16m-2	Not detected Target not detected	LDA
H1	10101963(a)	DNA proviral VIH-1 LDA	4m-2, 7,1m-1	19 Copies/µg	LDA
A2	10101963(b)	DNA proviral VIH-1 LDA	4m-2, 10m-1	10 Copies/µg	LDA
B2	25051969(a)	DNA proviral VIH-1 LDA	4m-2, 7,8m-1	14 Copies/µg	LDA
C2	25051969(b)	DNA proviral VIH-1 LDA	4m-2, 6m-1	26 Copies/µg	LDA
D2	09071964(a)	DNA proviral VIH-1 LDA	4m-2, 10,7m-1	11 Copies/µg	LDA
E2	09071964(b)	DNA proviral VIH-1 LDA	4m-2, 9m-1	Not detected Target not detected	LDA

F2	06071956(a)	DNA LDA	proviral	VIH-1	4m-2, 4,5m-1	21	Copies/μg	LDA
G2	06071956(b)	DNA LDA	proviral	VIH-1	4m-2	17	Copies/μg	LDA
H2	21031972	DNA LDA	proviral	VIH-1	4m-2, 12m-1	83	Copies/μg	LDA
A3	27101972	DNA LDA	proviral	VIH-1	4m-2, 5m-1	67	Copies/μg	LDA
B3	2011973	DNA LDA	proviral	VIH-1	4m-2, 6m-1	10	Copies/μg	LDA
C3	228107 C+	DNA LDA	proviral	VIH-1		141	Copies/μg	LDA
D3	NEG	DNA LDA	proviral	VIH-1	control	Not detected		LDA
E3	AGUA	DNA LDA	proviral	VIH-1		Not detected Target not detected		LDA

Representando los resultados anteriores tenemos:

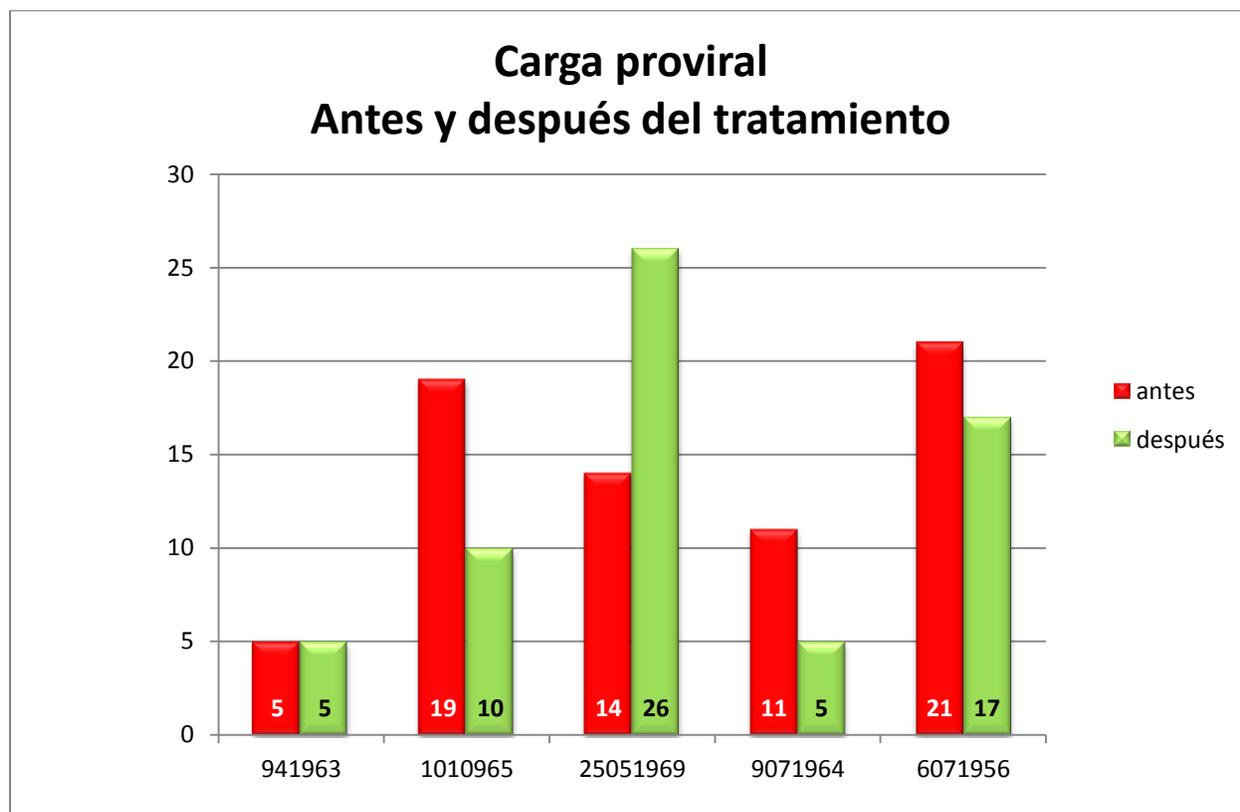


Figura 75- Carga proviral antes y después del tratamiento

■ DISCUSIÓN

Al no poder contar en nuestros casos de estudio con grupo control, las hipótesis inicialmente preparadas sobre la carga proviral antes y después del tratamiento no tienen cabida.

Por lo que nos vamos a limitar a estudiar los resultados de carga proviral antes y después del tratamiento mediante el programa SPSS para windows como datos de distribución libre, no necesitaremos hacer supuestos para realizar los contrastes.

Luego si utilizamos contrastes que no plantean hipótesis sobre parámetros, utilizaremos las pruebas no paramétricas.

1-Pruebas no paramétricas

Estadísticos descriptivos

	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
DNAINICI	5	14,00	6,403	5	21
DNAFIN	5	12,60	8,961	5	26

Estadísticos descriptivos

Percentiles			Copias / µgr de DNA celular total.	
25	50 (Mediana)	75		
8,00	14,00	20,00	DNA INICIAL	14 (8 -20)
5,00	10,00	21,50	DNA FINAL	10(5 -21,5)

Hemos utilizado dentro de las pruebas no paramétricas, las pruebas para dos muestras relacionadas. Utilizando la prueba de Wilcoxon para ello.

2-Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

Rangos

	N	Rango promedio	Suma de rangos
DNAFIN - Rangos negativos	3(a)	2,00	6,00
DNAINIC Rangos positivos	1(b)	4,00	4,00
Empates	1(c)		
Total	5		

- a DNAFIN < DNAINICI
- b DNAFIN > DNAINICI
- c DNAINICI = DNAFIN

En la tabla anterior se puede ver el número, media y suma de los rangos negativos y de los positivos. Las notas a pie de tabla permiten conocer el significado de los rangos positivos y negativos. También ofrece el número de empates y el número total de sujetos.

En la tabla siguiente podemos ver el estadístico de wilcoxon (Z) y el valor “p” bilateral aproximado.

Estadísticos de contraste (b)

	DNAFIN - DNAINICI
Z	-,365(a)
Sig. asintót. (bilateral)	,715

- (a) Basado en los rangos positivos.
- (b) Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

Luego $p = 0,72$

Hemos asumido que el DNA proviral (carga proviral) es igual a los reservorios virales y por lo tanto, no hemos encontrado un aumento significativo en el número de reservorios después de aplicar nuestra terapia. Esta cuantificación del reservorio latente del HIV-1 realizada es difícil de detectar, ya que al menos solo uno entre un millón de Linfocitos T CD4 esta infectado latentemente y hay aproximadamente 100 copias de provirus integrado por cada linfocito T CD4 infectado latentemente.

Este trabajo nos ha servido como un marcador para indicarnos los cambios en el reservorio latente. Sin embargo el pequeño tamaño de estos reservorios y la imprecisión de las analíticas actuales requieren técnicas de mejora para determinar la efectividad de los tratamientos de reactivación de latencia. Ya que aunque hubiéramos logrado reducir el reservorio entre 10 a 100 veces su tamaño original, las células infectadas que quedaran no podrían visualizarse por encontrarse la cantidad por debajo del límite de detección del aparato, en nuestro caso 5 copias/ μ gr.

■ CONCLUSIONES

Esta falta de significancia estadística en los resultados puede atribuirse a que no hemos alcanzado con nuestras microcorrientes los reservorios, aunque el funcionamiento eléctrico se comprobó para cada uno de los tratamientos, con todas las configuraciones posibles de sus parámetros, y se encontró una exactitud siempre mejor del 97 %.

Se evaluó el comportamiento de los amplificadores de potencia de los canales de estimulación para diferentes valores de resistencia de carga, encontrándose una tendencia a la linealidad y un marcado comportamiento como fuente de corriente ante variaciones importantes en la resistencia de carga. Aunque cada paciente mostrara impedancias diferentes muy significativas, el funcionamiento en condición de cortocircuito para la intensidad de estimulación máxima durante cinco minutos, no introdujo variación significativa de funcionamiento del estimulador.

Tampoco encontramos diferencias significativas en el comportamiento de la amplitud del estímulo eléctrico contra el valor indicado como referencia en las características técnicas del equipo, para diferentes valores de impedancia de carga. Observándose linealidad y el comportamiento típico de fuente de corriente.

Probamos para varios valores de resistencia de carga, el error relativo de la intensidad de estimulación eléctrica tomando como referencia el valor mostrado en las especificaciones técnicas del estimulador. El error se mantenía por debajo de 5 %, lo cual es satisfactorio en este tipo de aplicación. Estos tratamientos terapéuticos no requieren una alta precisión en el ajuste de los parámetros puesto que siempre están por debajo de la tolerancia del paciente con intensidades de estimulación por debajo del umbral de percepción y no requieren la aplicación de valores específicos.

Se constató que los parámetros eléctricos incluidos en los tratamientos predefinidos y programables coinciden con los analizados por nosotros. Estos grupos de tratamientos incluidos hacen del estimulador un equipo universal, dado que sus posibles direcciones de aplicación permiten tratar una amplia gama de situaciones patológicas. Aunque sería conveniente para un futuro ensayo clínico poder disponer de otro estimulador transcutáneo de nervios (TENS), más específico para nuestro fin. Ya que todos están dirigidos esencialmente en inducir analgesia ante el dolor, generando un bloqueo de las bioseñales eléctricas generadas naturalmente por una lesión.

Sería interesante también disponer de un estimulador preparado para la iontoforesis que constituye otra de las posibles aplicaciones disponibles para la reactivación del virus latente. Esta se traduce en la duplicidad de métodos, ya que aparte de la acción implícita de la corriente eléctrica por sí sola en la reactivación. También sirve para la introducción de sustancias medicamentosas polares en el organismo humano usando la estimulación eléctrica como único portador, como el empleado en la reactivación del virus del herpes

por Spotswood L., 1990[67] . Esta técnica sería interesante de aplicar introduciendo agentes neuroactivos como la epinefrina.

Nos hemos dado cuenta que es necesario involucrar a inversores, ya que estos estudios son necesarios para poder curar el HIV-1 y el potencial beneficio para la humanidad es muy grande pero el beneficio para los voluntarios reclutados en los comienzos es casi inexistente.

Los voluntarios apropiados para poder realizar un ensayo clínico, requieren ser recompensados económicamente. Otro condicionante para poder seleccionar estos sujetos es que su reservorio de células latentes infectadas no sea tan pequeño y por lo tanto que pudiera ser más manejable analíticamente.

Los recientes desafortunados resultados de la investigaciones de vacunas y microbiocidas del VIH-1, han renovado pronto el compromiso básico para identificar los enfoques efectivos de estas estrategias de prevención de necesidad tan urgente. Nosotros defendemos con un ímpetu similar estos nuevos enfoques para purgar los reservorios latentes con el objetivo de curar la infección del HIV-1.

Las terapias antilatenencia requerirán de la capacidad de la industria farmacéutica para el descubrimiento de drogas para que actúen conjuntamente con la aplicación de las microcorrientes. Claramente queda mucho trabajo, pero estos conocimientos científicos noveles pueden abrir caminos efectivos clínicamente.

■ REFERENCIAS

1. Afridi, HI, Kazi, N. et al. Evaluation of zinc in scalp hair and blood samples of tuberculosis and diarrhea male human immunodeficiency virus patients. *Clinical Laboratory* 2011, 57; 3-4; 171-181. [13]
2. Agata P. Colbert, Jinkook Yun. Skin Impedance Measurements. *eCAM*;5(4)443-450 2008[65]
3. Allard JP, Aghdassi E, Chan J, Salit I, Walmsley S. Oxidative stress micronutrients in human with HIV infection. 1998 .*Am. J. Clin. Nutr.*; 67:143-147. [3]
4. Beal J.E, Olson R, Lambenstein L, et al. Dronabinol as a treatment for anorexia associated with weight loss in patients with AIDS. *J Pain Symptom Manage* 1995; 10 : 89-97. [10]
5. Berneis K, Battegay M, Bassetti S, et al. Nutritional supplements combined with dietary counselling diminish whole body protein catabolism in HIV-infected patients. *Eur J Clin Invest* 200; 30 : 87-94. [7]
6. Bogden, JD, Oleske, JM. et al. The essential trace minerals, immunity and proression of HIV-1, *Infection Nutrition Research* 2007 ; 27 : 2 :69-77[15]
7. Bong Kun Choi, Cesar Fermin D, Alla Comandelle M. et al: Alteration in intracellular potassium concentration by HIV-1 Nef. *Virology Journal*, 2008[26]
8. Bukrinsky MJ, Stanwick TL, Dempsey MP, Stevenson M: Quiescent T lymphocytes as an inducible virus reservoir in HIV-1 infection. 1991. *Science*, 254: 423-427. [38]
9. Cajal SRY(1985). *Elementos de histología normal y de technica micrographica*. Nicolas Moya, Madrid. [69]
10. Carrasco L: Modification of membrane permeability by animal viruses. *Adv Virus Res* 1995, 45:61-112[20]
11. Chan K Y. Beck T W, Mullen P, et al. Increased axonal transport of trigeminal ganglion proteins in an electrode model. 1989. *Invest. Ophthatmol. Vis. Sci.* 30: 2050 -2055. [50]
12. Chang K, Kim JW, et al. Biphasic electrical current stimulation promotes both proliferation and differentiation of fetal neural stem cells. 2011. *Plos one*: 6 ; 4. [41]

13. Cheng N, Vanhoof H, Bockx E. The effects of electric current on ATP generation, Protein synthesis and membrane transport. (1982). *Clinical Orthopaedics and Related research*, 171, 264-272. [36]
14. Choi B, Gatti Pj, Haislip AM, Fermin CD: Role of potassium in human immunodeficiency virus, *J Virol* 1996, 70:5447-5454. [23]
15. De Souza JO, Treininger A, Baggio GL. Et al, Alpha-tocopherol as an antiretroviral Therapy Supplement for HIV-1 infected patients for increased lymphocyte viability. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43 : 376-82. [17]
16. Douek DC: Disrupting T-cell homeostasis: how HIV-1 infection causes disease. *AIDS Rev* 2003, 5:172-177. [24]
17. Durand, Dominique M. Electric stimulation. *Biomedical engineering fundamentals*. 3 de. Boca Raton: CRC Press, 2006 [64]
18. Edeas MA, Peltiere, E, Claise C, Khalfoun Y, Lindenbaum A. Immunocytochemical study of uptake of exogenous carrier-free copper-Zinc Superoxidase Dismutase by peripheral blood lymphocytes. *Cell Mol Biol* 1996; 42: 1137-1143. [4]
19. Fischer WB, Sansom MS. Viral ion channels: structure and function. (2002). *Biochim. Biophys.* [39]
20. Francis Lín, Fabio Baldessari, Juan G. Santiago, et al.: Lymphocyte electrotaxis In Vitro and In Vivo. *J. Immunol.* 2008 ;181;2465-2471 [52]
21. Garry RF, Bishop JM, Parker S, Westbrook K. : Na⁺ and K⁺ concentrations and the regulation of protein synthesis in virus-infected cells. *Virology Journal*, 96:108-120. [21]
22. Gershon MD (2002) Development of the enteric nervous system. Inervation of the gastrointestinal tract. pp. 469-525. Taylor&Francis, London and Newyork. [70]
23. Gonzalez M.E., Carrasco L., Viporins, *FEBS Leters* 2003; 552, 1 ; 28-34 [28]
24. Gonzalez ME, Carrasco L. The human immunodeficiency virus type 1 Vpu protein enhances membrane permeability. *Biochemistry* 37, 13710-13719. [40]
25. Green DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis. *Science* 1998; 281: 1309-1312. [12]

26. Green MT, Rosborough J P, Dunkel E D. In vitro reactivation of herpes simplex virus. *Electrode Model. Infection and Immunity* 1981, 69-74.
27. GRILL, Warren M *Electrical stimulation, The biomedical engineering handbook. 3ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. [63]*
28. Grinspoon S, Corcoran C, Miller K, et al. Determinants of increased energy expenditure in HIV-infected women, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1998; 68: 720-725. [9]
29. Halek J, Opavsky. Problems of the skin resistance measuring in randomly chosen and so-called active points of the skin. *Fac. Med.* 1984; 107;51-62. [68]
30. Heijligenberg R, Romijn J.A, Hommes MJ, Endert E, Eeftinck-Schattenkerk JK, Sauerwein HP. Non-insulin-mediated glucose uptake in human immunodeficiency virus-infected men. 1993. *Clin. Sci. Lond.*; 84: 209-216. [6]
31. Hodgk.in, A. L. 1964. The ionic basis of nerve conduction. *Science* 145: 1148-1154. [62]
32. Hori T, Katafuchi T, Take S, Shimizu N. The autonomic nervous system as a communication channel between the brain and the immune system. 1995. *Neuroimmunomodulation.* 4, 203 – 215. [47]
33. Hülya Bayir, Valerian E Kagan: Bench to bedside review: Mitochondrial injury, oxidative stress and apoptosis. 2008 Biomed Central. [30]
34. Jaruga P, Jaruga B, Gackowski D, et al. Supplementation with antioxidant vitamins prevents oxidative modification of DNA in lymphocytes of HIV-infected patients. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 414-20. [19]
35. Jones PH .Do activated lymphocytes communicate clone-specific information to the CNS ?. *Brain Behav. Immun.* 16, 619 – 621. [48]
36. Kaiser JD, Campa AM, Ondercin JP, et al. Micronutrient supplementation increase CD4 count in HIV-infected individuals on Highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006. [18]
37. Kawakita K, Kawamura H, Development of low impedance points in the auricular skin. *Am. J. Chin. Med.* 1991; 19: 199-205. [67]
38. Kort JJ, Garry RF. Similarities of viral proteins to toxins that interact with monovalent cation channels. (1991) *AIDS.* 5: 1381-1384 [32]

39. Kumagai E, Tominaga M, Harada S. Sensitivity of chronically HIV-1 infected HeLa cells to electrical stimulation. 2004. *Appl. Microbiol. Technol.* V63 , N6, 754 – 758. [44]
40. Kumagai E, Tominaga M, Nagaishi S, Harada S. Effect of electrical stimulation on human immunodeficiency virus type-1 infectivity. 2007. *Appl. Microbiol. Technol* V 77: N 4: 947 – 953. [46]
41. Kunkel E, Bulcher E. Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes. *Immunity* 2002;16:1-4. [59]
42. Kwon D, Gregorio G, Bitton N, Hendrickson W, Uttman D. DC-SIGN-mediated internalization of HIV is required for trans-enhancement of T-cell infection. *Immunity* 2002;16:135-44. [58]
43. Lai WM, Mow VC, Sun DD, Atesian G A. On the electric potentials inside a charged soft hydrated biological tissue: Streaming potential versus diffusion potential. 2000. *J. Biomech Eng.* 122: 336-346[35]
44. Lampe G. N., Mannheimer J. S. "Clinical Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation", FA Davis Company. Philadelphia, 1984. [57]
45. Lee, S.Y., Jeong Y., Differences in electrical conduction properties between meridians and non-meridians. 2005. *Americal Journal of chinese Medicine*, vol.33, n5, pp 723-728. [34]
46. Lyman W D, Merkatz I R, Kaali S G. Biocompatible electric current attenuates HIV infectivity. *Surgical technology international.* 1996; 50: 75 – 9. [43]
47. Makutonina A, Voss TG, Plymale DR, Fermin CD, Norris CH, Vigh S: Human immunodeficiency virus infection of T-lymphoblastoid cells reduces intracellular pH. *J Virol* 1996, 70:7049-7055. [27]
48. Manaka Yoshio, Itaya Kazuko, Birch Stephen Manakas Quantensprung. (2004) Edit. Medizinisch Literarische Verlagsges. ISBN 3881362177. [33]
49. McDonald D, Wu L, Bohks S, KewalRamani V, Unulmaz D, Hope T. Recruitment of HIV and its receptors to dendritic cell-T-cell junctions. *Science* 2003;300:1295-7. [61]
50. Melzack, R; Wall, P.D.(1995) Pain Mechanism: A New Theory. *Science* n°150, pp971-979. [53]

51. Mezzetti A, Pierdomenico S D, Costantini F, et al. Copper / zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging-related degenerative disease-free. 1998. *Radio. Biol. Med.*; 25:676-681. [5]
52. Mie M, Manabe M, Kobatake E. Combining electrical stimulation and Cisplatin treatment increases caspase activity. 2008. *Electrochemistry*; 76; 8; 529 – 531. [42]
53. Moore RD, Forney D, et al. Anemia in HIV-infected patients receiving HAART. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002; 29 : 54-7[16]
54. Mowal A, Viney J. The anatomical basis of intestinal immunity. *Immunol Rev* 1997;156:145-66. Geijlenbeek T. Torensma R, Van Vliet S, et al. Identification of DC-SIGN, a novel dendritic cell-specific ICAM-3 receptor that supports primary immune responses. *Cell* 2000;100:575-85. [60]
55. Paulik M, Lancaster M, Croom D, et al. Antioxidants rescue NRTI-induced metabolic changes in AKR/J mice. *Antivir Ther* 2000; 5(suppl 5): 6-7. [11]
56. Pichard C, Sudre P, Karsegard V, et al. A randomized double-blind controlled study of 6 months of oral nutritional supplementation with arginine and omega-3 fatty acids in HIV infected patients. *AIDS* 1998; 12: 53-56. [8]
57. Piller SC, Ewart GD, Premkumar A, Cox GB: Vpr protein of human immunodeficiency virus type 1 forms cation-selective channels in planar lipid bilayers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, 93:111-115. [22]
58. Piscitelli SC, Burstein AH, Welden N, Gallicano KD, et al, The effect of garlic supplements on saquinavir. *Clin Infect Dis* 2002; 34:234-8. [14]
59. Prieto Alfredo. Introducción a la inmunología, 2009-. www2.uah.es/problembased. [29]
60. Rodriguez, J. M. "Electroterapia de baja y media frecuencia", Ed. Mandalia. Madrid, 1994. [56]
61. Saeed R W, Varma S, Peng-Nemeroff T, et al. Cholinergic stimulation blocks endothelial cell activation and leukocyte recruitment during inflammation. 2005. *J. Exp. Med.* 201 (7), 1113 – 1123. [51]
62. Saku K, Mukaino. Characteristics of reactive electropermeable points. *Clin Cardiol* 1993;16;415-9. [66]

63. Seligman Lee J “Physiological stimulators: From electric fish to programmable implants, 1982 , IEEE Tran. BME. ,Vol 29, n4. [37]
64. Siliciano R.F, Dinoso J.B, Kim.S.Y. Treatment intensification does not reduce residual HIV-1 viremia in patients on HAART. 2009. PNAS, vol(106),issue 23, february 2009. [1]
65. Smith P D, Meng G, Salazar-Gonzalez JF. et al . Macrophage HIV-1 infection and the gastrointestinal tract reservoir. 2003. J. Leukoc. Biol. 74: 642 – 649. [49]
66. Sodi-Pallares, D.) Demetrio Sodi-Pallares. Magnetoterapia y Tratamiento Metabólico, Edic.Sodi,Mexico DF,1994. [2]
67. Spotswood L., Freeman. D J. Topical treatment of cutaneous herpes simplex virus infections. Ativiral Research .vol 14.issue 6,305-321.1990
68. Tominaga M, Kumagai E, Harada S. Effect of electrical stimulation on HIV-1 infected HeLa cells cultured on electrode surface. 2003. Appl. Microbiol. Technol. V61 : 447 – 450. [45]
69. UNE 20-613-92, Parte 2- 10 "Equipos Electromédicos, Requisitos particulares de seguridad para estimuladores nerviosos y musculares. [55]
70. UNE EN 60601-1 "Equipos Electromédicos, Requisitos Generales para la Seguridad", mayo 1993. [54]
71. Voss TG, Fermin CD, Garry RF: Alteration of intracellular potassium and sodium concentrations correlates with induction of cytopathic effects by human immunodeficiency virus. J Virol 1996, 70:5447-5454. [25]
72. Wang K,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,Anesth Analg 2009 109 : 1666. 1673
73. Zegarra-Moran O, Rasola A, Rugolo M. et al. HIV-1 Nef expresión inhibits the activity of [Ca²⁺] . 1999 .The journal of immunology, 162 : 5359- 5366. [31]