



Universidad
de Alcalá

COMISIÓN DE ESTUDIOS OFICIALES
DE POSGRADO Y DOCTORADO

ACTA DE EVALUACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

Año académico 2016/17

DOCTORANDO: **JIMÉNEZ JIMÉNEZ, SAMUEL**
D.N.I./PASAPORTE: ****9191Y

PROGRAMA DE DOCTORADO: **D335 DOCTORADO EN FISIOTERAPIA MANUAL**
DEPARTAMENTO DE: **ENFERMERÍA Y FISIOTERAPIA**
TITULACIÓN DE DOCTOR EN: **DOCTOR/A POR LA UNIVERSIDAD DE ALCALÁ**

En el día de hoy 13/07/17, reunido el tribunal de evaluación nombrado por la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado de la Universidad y constituido por los miembros que suscriben la presente Acta, el aspirante defendió su Tesis Doctoral, elaborada bajo la dirección de TOMÁS GALLEGO IZQUIERDO // ANTONIO OLIVEIRO.

Sobre el siguiente tema: *ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA Y MODULACIÓN DE CIRCUITOS ESPINALES EN LA ORGANIZACIÓN DEL MOVIMIENTO*

Finalizada la defensa y discusión de la tesis, el tribunal acordó otorgar la CALIFICACIÓN GLOBAL⁴ de (no apto, aprobado, notable y sobresaliente): SOBRESALIENTE

Alcalá de Henares, 13 de julio de 2017

EL PRESIDENTE

Fdo.: Roy La Fuente Arbizu

EL SECRETARIO

Fdo.: Daniel Pecos Martín

EL VOCAL

Fdo.: Laura Mercedes Pérez

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ, PATRIMONIO DE LA HUMANIDAD

Con fecha 24 de julio de 2017 la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado, a la vista de los votos emitidos de manera anónima por el tribunal que ha juzgado la tesis, resuelve:

- Conceder la Mención de "Cum Laude"
 No conceder la Mención de "Cum Laude"

La Secretaria de la Comisión Delegada

FIRMA DEL ALUMNO,

Fdo.: Samuel Jiménez Jiménez

⁴ La calificación podrá ser "no apto" "aprobado" "notable" y "sobresaliente". El tribunal podrá otorgar la mención de "cum laude" si la calificación global es de sobresaliente y se emite en tal sentido el voto secreto positivo por unanimidad.



Universidad
de Alcalá

COMISIÓN DE ESTUDIOS OFICIALES
DE POSGRADO Y DOCTORADO

En aplicación del art. 14.7 del RD. 99/2011 y el art. 14 del Reglamento de Elaboración, Autorización y Defensa de la Tesis Doctoral, la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado, en sesión pública de fecha 24 de julio, procedió al escrutinio de los votos emitidos por los miembros del tribunal de la tesis defendida por *JIMÉNEZ JIMÉNEZ, SAMUEL*, el día 13 de julio de 2017, titulada *ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA Y MODULACIÓN DE CIRCUITOS ESPINALES EN LA ORGANIZACIÓN DEL MOVIMIENTO*, para determinar, si a la misma, se le concede la mención "cum laude", arrojando como resultado el voto favorable de todos los miembros del tribunal.

Por lo tanto, la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado **resuelve otorgar** a dicha tesis la

MENCIÓN "CUM LAUDE"

Alcalá de Henares, 27 julio de 2017
EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE ESTUDIOS
OFICIALES DE POSGRADO Y DOCTORADO



Firmado digitalmente por VELASCO
PEREZ JUAN RAMON - DNI
03087239H
Fecha: 2017.07.30 18:16:02 +02'00'

Juan Ramón Velasco Pérez

Copia por e-mail a:

Doctorando: *JIMÉNEZ JIMÉNEZ, SAMUEL*

Secretario del Tribunal: *DANIEL PECOS MARTÍN*.

Directores de Tesis: *TOMÁS GALLEGO IZQUIERDO // ANTONIO OLIVEIRO*



Universidad
de Alcalá

ESCUELA DE DOCTORADO
Servicio de Estudios Oficiales de
Posgrado

DILIGENCIA DE DEPÓSITO DE TESIS.

Comprobado que el expediente académico de D./D^a _____
reúne los requisitos exigidos para la presentación de la Tesis, de acuerdo a la normativa vigente, y habiendo
presentado la misma en formato: soporte electrónico impreso en papel, para el depósito de la
misma, en el Servicio de Estudios Oficiales de Posgrado, con el nº de páginas: _____ se procede, con
fecha de hoy a registrar el depósito de la tesis.

Alcalá de Henares a _____ de _____ de 20 _____



Fdo. El Funcionario



Facultad de Medicina y ciencias de la salud.

Departamento de Enfermería y Fisioterapia.

TESIS DOCTORAL

Estimulación eléctrica y modulación de circuitos
espinales en la organización del movimiento.

Autor.

Samuel Jiménez Jiménez

Bajo la dirección de:

Dr. Tomás Gallego Izquierdo

Dr. Antonio Oliviero

Alcalá de Henares, 2017.



Departamento de Enfermería y Fisioterapia

ACUERDO DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO DE ENFERMÍA Y FISIOTERAPIA DE LA UNIVERSIDAD DE ALCALÁ SOBRE LA TESIS DOCTORAL PRESENTADO POR D. SAMUEL JIMÉNEZ JIMÉNEZ.

Título de la Tesis: **Estimulación eléctrica y modulación de circuitos espinales en la organización del movimiento.**

Programa de Doctorado Fisioterapia Manual: RD 1393/2007

Directores de Tesis: **Dr. D. Tomás Gallego Izquierdo y Dr. Antonio Oliveira.**

Como directora del Departamento de Enfermería y Fisioterapia hago constar que en el Consejo de Departamento celebrado el día 21 de abril de 2017, se acordó informar favorablemente sobre la Tesis de D.Samuel Jiménez Jiménez, al reunir los requisitos académicos y administrativos que la Norma establece.

La Directora del Departamento

Dra. Dña. Cristina Francisco del Rey



Departamento de Enfermería y Fisioterapia

Los doctores **D. Tomás Gallego Izquierdo**, Profesor Titular del Departamento de Enfermería y Fisioterapia de la Universidad de Alcalá y **D. Antonio Oliviero** del Grupo FENNSI del Hospital Nacional de Parapléjicos de Toledo, como directores de la Tesis realizada por D. Samuel Jiménez Jiménez.

CERTIFICAN

Que el presente trabajo de Investigación titulado “Estimulación eléctrica y modulación de circuitos espinales en la organización del movimiento”, reúne los méritos suficientes para que su autor pueda optar al grado de Doctor, y que pueda ser defendido ante el Tribunal correspondiente que ha de juzgarlo.

Y para que así conste así se firma el presente certificado en Alcalá de Henares a 19 de Diciembre de 2017.



Dr. D. Tomás Gallego Izquierdo
Director de la Tesis



Dr. D. Antonio Oliviero
Coodirector de la Tesis



Este esfuerzo por comprender un poquito más la memoria y el aprendizaje, quiero dedicárselo a otro atributo íntimamente humano: “La curiosidad”. Sin duda, la madre de todo recuerdo, de toda humanidad.

Así pues, gracias a ella y a todos los curiosos que mantenéis el mundo vivo. Y por supuesto, gracias a todos los que alimentáis mi curiosidad por la vida. Vosotros sabéis quienes sois ¿Verdad Irene?.

... y replicó la Reina Blanca “Qué pobre memoria es aquella que sólo funciona hacia atrás.”

Alicia en el país de las maravillas

Lewis Carroll

Agradecimientos:

Al escribir esta sección siento una ilusión tremenda por reconocer a todas las personas que me ayudaron en este proceso y a la vez siento un gran miedo, al contemplar la posibilidad de olvidar algunos de ellos.

Son muchas las personas a las que quiero agradecer su ayuda y apoyo en el trabajo que hay detrás de este documento.

Por supuesto quiero agradecer a mis dos directores de Tesis. A Antonio por recibirme en Toledo y abrirme la puertas no sólo de un laboratorio sino también de un ámbito de conocimiento. Espero que el futuro me permita seguir aprendiendo junto a ti.

A Tomás, por confiar en mi, por apoyar que las neurociencias tengan su hueco dentro de la fisioterapia.

Al Dr. Josep Valls Solé, por su desinteresado asesoramiento y ayuda.

A los componentes del grupo FENNSI, muchas gracias por recibir a un extraño y además fisioterapeuta con tanta alegría y tanta paciencia, gracias a todos y muy especialmente a Michela, Laura, Vanesa, Yolanda y Carmen.

Al departamento de la universidad de Alcalá que ha acogido esta tesis.

Al hospital de paraplégicos de Toledo donde se ha realizado todo el trabajo experimental.

Una mención muy especial se merecen mis compañeros del centro Téxum, y los pacientes que confían en nosotros, ellos son el germen de toda curiosidad y de toda duda.

A mis abuelos y a mis padres, por enseñarme el valor del esfuerzo. A mis sobrinas por sus sonrisas, a Guadalupe por apoyarme en los inicios de esta andadura. Al resto de mi familia y amigos, porque aunque no lo sepan se lo merecen.

Algunas fuentes de inspiración merecen un especial agradecimiento: Ángel González, ese ángel menos dos alas. Otros curiosos con Eric, Ramón y Milagro... santos de mi devoción, gracias.

Y claro está, a Sandra, por tanto.

A todas las personas que han colaborado y apoyado este trabajo y que por descuido no malintencionado haya podido olvidar.

Índice

Índice	5
Índice de abreviaturas	9
1. Plasticidad en el sistema nervioso	12
1.1. Introducción al concepto de neuroplasticidad	12
1.2. Modelos experimentales y características de la potenciación a largo plazo y potenciación a corto plazo	15
2. Estimulación no invasiva del sistema nervioso	19
2.1. Antecedentes	19
2.2. Bases fisiológicas de la EMT	21
2.3. Estimulación mediante pulso único	23
2.3.1. Onda D, onda I1 y ondas I tardías	26
2.3.2. Diferencias entre estimulación eléctrica directa y estimulación magnética transcraneal	28
2.4. Estímulos pareados.....	29
2.5. Estimulación repetitiva	30
2.5.1. Protocolo EMTr (Estimulación Magnética Transcraneal repetitiva)	31
2.5.2. Protocolo TBS (<i>theta burst</i>).....	31
2.5.3. Efectos de la cTBS sobre la onda I1.....	34
3. Arco reflejo y reflejo H	35
3.1. Reflejo miotático	35
3.1.1. Componentes del reflejo miotático	36
3.1.2. Otros fenómenos relacionados.....	37
3.1.3. Implicaciones clínicas de los reflejo medulares	37
3.2. Reflejo H	38

3.2.1.	Relación entre onda H y onda M	40
3.2.2.	Similitudes entre la onda H y la onda I.....	40
4.	Hipótesis y objetivos	43
4.1.	Hipótesis	43
4.2.	Objetivos.....	44
5.	Sujetos, material y métodos.....	45
5.1.	Diseño del estudio	45
5.2.	Sujetos	46
5.3.	Definición de variables	47
5.3.1.	Intervención / variables independientes	47
5.3.2.	Variables de control	47
5.3.3.	Variables dependientes	48
5.4.	Preparación del registro	50
5.5.	Descripción de los experimentos.....	51
5.5.1.	Descripción genérica de los experimentos	51
5.5.2.	Listado de los experimentos	52
Experimento 1.....	52	
Experimento 2 (o la influencia del factor «tiempo»)	55	
Experimento 3 (o la influencia del factor intensidad)	56	
6.	Descripción y análisis de los resultados	61
6.1	Resultados.	61
6.2.	Variables demográficas y neurofisiológicas.....	62
6.3.	Análisis de los datos.....	63
6.4.	Descripción de los resultados	64

Experimento 1.....	64
Experimento 2.....	67
Experimento 3.....	67
7- Discusión	71
8- Limitaciones	75
9- Conclusiones	77
10- Bibliografía	79
Anexos.....	85
Anexo 1. Hoja de consentimiento informado.....	87
Anexo 2. Aprobación del comité de ética.....	89
Anexo 3. Colocación de electrodos, posición del sujeto y material del laboratorio...91	
Índice de tablas.....	93
Índice de figuras	95

Índice de abreviaturas

CA1: Corpus Amonis 1 (área del hipocampo)

cTBS: *Theta burst* continuo

DCP: Depresión a corto plazo

DLP: Depresión a largo plazo

EMG: Electromiografía

EMG Background: área de registro electromiográfico basal

EMT: Estimulación Magnética Transcraneal

EVA: Escala Visual Analógica

FENNSI: Funtional Exploration and Neuromodulation of Nervous System Investigation

HNPT: Hospital Nacional de Paraplégicos de Toledo

ImTBS: *Theta burst* intermedio

iTBS: *Theta burst* intermitente

Mmáx: Onda M máxima

PCP: Potenciación a corto plazo

PEM: Potencial Evocado Motor

PLP: Potenciación a largo plazo

SN: Sistema Nervioso

SNC: Sistema Nervioso Central

SNP: Sistema Nervioso Periférico

TBS: *Theta burst*

T0: Registro basal, antes de la intervención

T1: Primer tiempo de registro, justo después de la intervención

T2: Segundo tiempo de registro, 15 minutos tras el fin de la intervención

T3: Tercer tiempo de registro, a los 30 minutos tras el fin de la intervención

UA: Universidad de Alcalá

UM: Umbral Motor

UMR: Umbral Motor en Reposo

UMA: Umbral Motor en Activación

UOH: Umbral onda H

US: Umbral Sensitivo

1. Plasticidad en el sistema nervioso

La década de los noventa fue bautizada como la década del cerebro. Estaba llamada a ser la década en la que se resolvieran los misterios más íntimos de este órgano. Tras la revolución industrial y la conquista del espacio, el hombre debía volcarse en un nuevo renacimiento. En conocerse un poco más a sí mismo, el gran reto era conocer los misterios del cerebro.

La década terminó y el cerebro sigue siendo un órgano misterioso y su funcionamiento encierra aún muchas dudas e incertidumbres. Al menos, las mismas instituciones que promovieron la llamada «década del cerebro», han tenido a bien denominar al siglo XXI «el siglo del cerebro».

En cualquier caso, seguimos preguntándonos acerca de estos misterios. Uno de estos que hacen al cerebro más fascinante y escurridizo es la complejidad de su organización, la comunicación entre sus partes y cómo estas comunicaciones cambian constantemente.

Nuestro enfoque, como el de muchos otros autores, ha sido el de intentar comprender el conocimiento de una estructura algo más sencilla que el cerebro: la médula espinal. Con la intención, entre otras, de que sumando aportes a este conocimiento nos ayudará a comprender mejor la complejidad del SN (Sistema Nervioso).

Consideramos que, si el trabajo que vamos a presentar consiguiera arrojar un mínimo de luz más a la ya existente sobre el funcionamiento de la médula espinal, el esfuerzo habría valido la pena.

1.1. Introducción al concepto de neuroplasticidad

La plasticidad en el sistema nervioso ha sido y es un tema de gran interés y fuente de innumerables teorías y especulaciones, por la gran repercusión que trae consigo. A través de estas líneas se intentará ofrecer una visión de la evolución y actualidad de los aspectos más relevantes en torno a este fenómeno.

La plasticidad, definida como la capacidad de expresar diferentes fenotipos en función de las influencias del ambiente (1), hace referencia a la posibilidad de cambio de una determinada estructura.

Esta posibilidad de cambio es una necesidad de muchos seres vivos para poder adaptarse a un entorno en constante transformación. Por tanto, parece lógico que muchos tejidos puedan cambiar si las necesidades ambientales así lo exigen. Por ejemplo, se han descrito cambios en el del tejido muscular ante determinadas circunstancias ambientales (2).

Sin embargo, si nos referimos a la posibilidad de cambio del SN, debemos admitir que éste posee unas connotaciones especiales. El SN es el responsable de conducir las sensaciones, interpretarlas como experiencias sensoriales, percibir e interpretar el mundo exterior y el medio interno, las emociones o incluso el comportamiento. Por tanto, si el SN cambia, quiere decir que nuestra forma de sentir, interpretar e incluso de comportarnos es también variable.

Muchos han sido los abordajes que la neurociencia ha dado para comprender cómo los cambios en el SN podrían influir en las capacidades humanas más características (3).

A modo de ejemplo citamos el estudio de la memoria y aprendizaje (4), que pone en evidencia estos cambios: Imaginemos que una persona es capaz de experimentar algo novedoso (p. ej. escuchar una pieza musical o realizar un gesto deportivo), de modo que esta experiencia nunca antes había sido percibida por su sistema nervioso. Supongamos que en otro momento esa misma persona es capaz de recordar esa experiencia (tatarear la melodía o repetir el gesto deportivo). Si es capaz de recordarla, quiere decir que algo nuevo, algún cambio ha debido producirse en ese SN, ya que, de algún modo, ha debido almacenarse esa información que previamente no existía en el SN de esa persona. Prueba de que algún cambio se ha producido es que esa información almacenada puede rememorarse (4, 5).

En un afán por localizar las funciones del SN se otorgó al hipocampo esta función de aprendizaje casi en exclusividad. Esta tendencia estuvo alentada por la descripción de algunos casos clínicos, en los que la lesión de este área encefálica producía daños en la memoria de aquellos que la padecían. Aparentemente, una lesión hipocampal limitaba o impedía el almacenamiento de nueva información (5), es decir, que una lesión del hipocampo parecía producir dificultades en el aprendizaje, el sujeto era incapaz de generar recuerdos nuevos, aunque sí era capaz de recobrar recuerdos previos a la lesión.

Tanto fue así, que muchos autores se orientaron a estudiar el hipocampo para describir cómo podían producirse estos cambios que daban lugar a la generación de recuerdos, es decir, al aprendizaje (6). Sin embargo, pronto se descubrió que la posibilidad de almacenar un recuerdo o una información del tipo que fuere no era exclusiva de una región concreta, sino que estos cambios se producen en las células nerviosas (neuronas) y en la comunicación que estas establecen entre sí (7).

De esta manera, se inauguró un vasto campo en las neurociencias, ya que para estudiar y comprender esta posibilidad de cambiar, y por tanto de aprender y recordar un fenómeno cualquiera, era necesario comprender cómo se relacionan unas neuronas con otras.

Teniendo en cuenta que las neuronas establecen conexiones entre las diferentes áreas del SN, el estudio de la plasticidad dejó de enfocarse en una única región para pasar a convertirse en el estudio de áreas muy diferentes así como de las conexiones que las unen.

En este sentido, cabe destacar los trabajos de algunos autores como Eric Kandel (8-10), quien consiguió aislar y describir algunos de estos fenómenos en sistemas nerviosos de invertebrados. De este modo, contribuyó a la comprensión de algunos de los fenómenos eléctricos y químicos que hacen posible este almacenamiento de la información. También ayudó a describir los mecanismos implicados en la modificación de la comunicación entre neuronas, ya fuera facilitando, ya dificultando la transmisión de una señal eléctrica de una neurona a otra.

De esta manera, parecía que estos cambios acaecidos en la conexión entre dos neuronas implicaban algunas reacciones electroquímicas. Sin embargo, estos modelos avanzaron mucho más allá. No solo se describieron estos cambios electroquímicos en términos sinápticos, es decir, el intercambio de sustancias en una conexión entre dos neuronas (sinapsis), sino que, además, se describió cómo estos cambios electroquímicos pueden generar una cascada de procesos en el interior de la neurona que hacen que el núcleo de esta neurona exprese con mayor frecuencia ciertos genes. Estos genes con mayor actividad, a su vez, sintetizarán un mayor número de proteínas. Dado que las proteínas conforman un elemento importante de la estructura de las neuronas, lo que al final ocurre es un cambio en la propia estructura de la neurona (9, 11). Es decir, los cambios en la comunicación entre varias neuronas pueden tener una repercusión en la expresión genética de éstas; esta variación en la expresión genética implicará por tanto cambios más profundos y duraderos en esta célula nerviosa. Este hecho podría ser la base para un almacenamiento más prolongado de la información. Es decir, es el cambio en la propia estructura de la neurona (cambio en su membrana, en el número de canales iónicos...) lo que provoca un comportamiento diferente de la neurona y, por tanto, origina la posibilidad de almacenar recuerdos (12).

A la luz de estos cambios, parece apropiado recordar las intuiciones de Santiago Ramón y Cajal. Al descubrir y describir estas conexiones entre neuronas auguró que modificando estas conexiones podríamos modular algunas funciones cerebrales, de modo que podríamos modificar también nuestro comportamiento. Él mismo acuñó incluso el término «gimnasia cerebral» (13) para alentar a la modelación de nuestro propio SN, «Todo hombre, puede ser, si se lo propone, escultor de su propio cerebro» llegó a decir el sabio aragonés.

Años más tarde, Donald Hebb estableció que: «cuando un axón de una célula A está lo suficientemente cerca de una célula B como para excitarla, y participa repetida o persistentemente en su disparo, ocurre algún proceso de crecimiento o cambio

metabólico, en una o en ambas células, de modo tal que la eficacia de A, como una de las células que hacen disparar a B, aumenta». Lo que dio lugar a lo que hoy conocemos como principio de Hebb (14). Resumiendo este principio, puede decirse que, si una neurona está directamente implicada en el funcionamiento de otra (ya sea porque la excita, ya porque la inhibe), se producen cambios de diversas índoles que hacen que esta comunicación sea más efectiva.

1.2. Modelos experimentales y características de la potenciación a largo plazo y potenciación a corto plazo

La posibilidad de almacenar información parece que se halla en la propia comunicación establecida entre las células del SN. Para explicar este fenómeno el modelo aceptado en la actualidad viene definido por los conceptos de «potenciación a largo plazo (PLP) y potenciación a corto plazo (PCP)».

Estos fenómenos se describieron inicialmente en preparaciones histológicas de hipocampo (15). La estructura laminar de algunos de sus circuitos hacía técnicamente viable el estudio de las conexiones entre distintas neuronas.

Estas preparaciones laminares se elaboraron en múltiples laboratorios donde se realizaron diferentes modelos experimentales en los que, con diversos tipos de estímulos eléctricos aplicados sobre las primeras neuronas (presinápticas), conseguían modificar la respuesta de la segunda neurona (postsináptica), llamada neurona piramidal (7, 12, 16).

El área más estudiada del hipocampo fue la denominada Corpus Amonis 1 (CA1) (figura 1). Aquí se halla un circuito formado por tres células nerviosas (neuronas). Dos de ellas presinápticas. Estas neuronas presinápticas tienen unas proyecciones colaterales denominadas de Schaffer y Comisural. Estas colaterales se relacionan con una tercera neurona (postsináptica), denominada neurona piramidal.

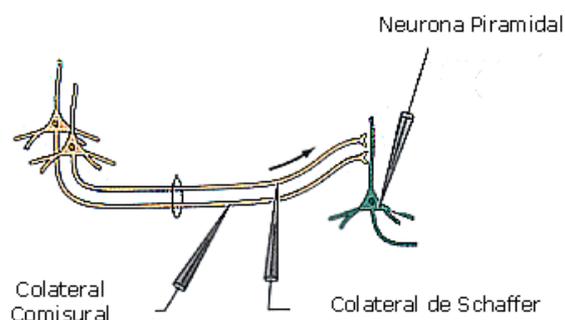


Figura 1. La colateral Comisural y la colateral de la neurona Schaffer convergen en la neurona piramidal, estableciendo así un circuito de dos neuronas presinápticas y una postsináptica, que podían ser registradas para conocer su actividad.

Cuando se aplicaba un estímulo eléctrico sobre la colateral de Schaffer, éste se transmitía a través de una unión sináptica a la neurona piramidal en la cual era posible registrar actividad eléctrica.

En diversos trabajos, esta actividad se tomó como parámetro de control. Ante un estímulo determinado (estímulo «A») de la colateral de Schaffer se obtiene una respuesta de la célula piramidal (respuesta «B») (figura 2). De esta forma, se podía evaluar si, ante determinadas intervenciones, variaba la respuesta que daba la célula piramidal ante el mismo estímulo sobre la colateral de Schaffer (7, 12, 16) (figura 2).

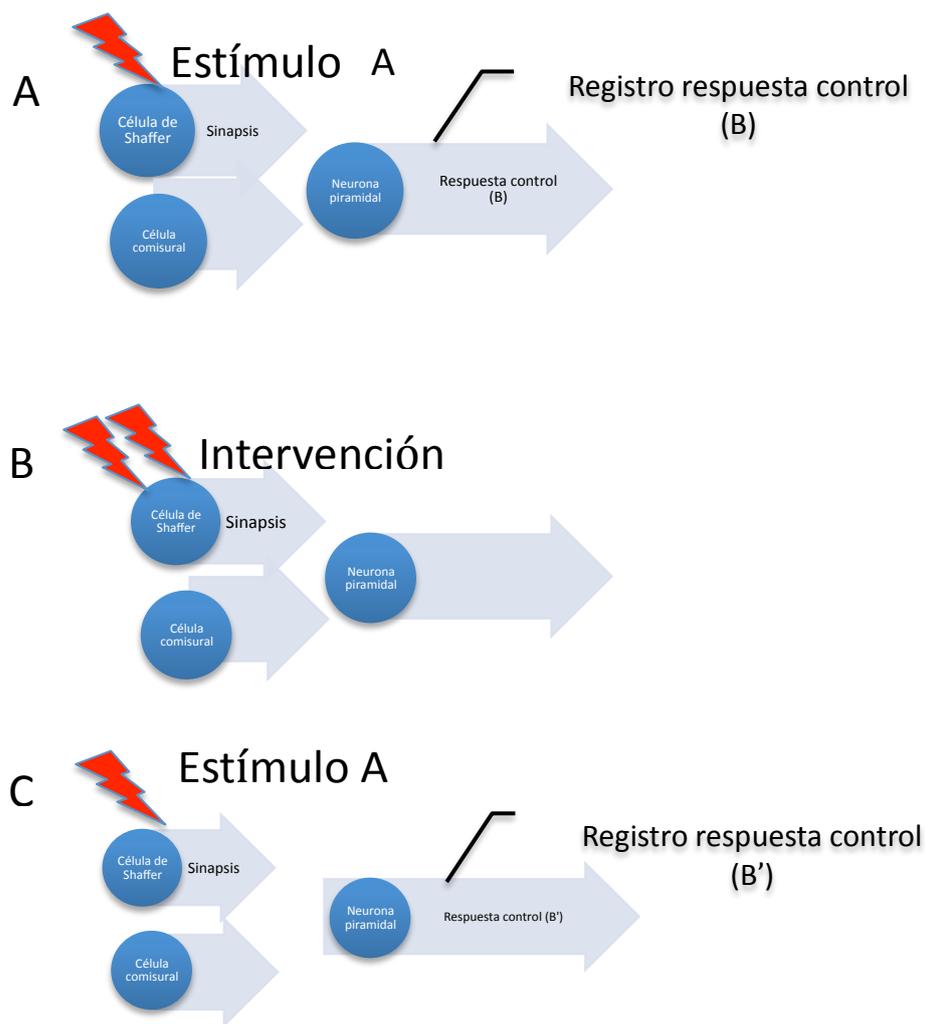


Figura 2. Cambios producidos en el circuito CA1. (1) Se establece una situación inicial de control, en la que un estímulo (A) sobre la colateral de Schaffer produce una respuesta registrable (B) en la célula piramidal. (2) Se aplica una intervención, en este caso trenes de impulsos de alta frecuencia sobre las colaterales de Schaffer y Comisural de forma simultánea. (3) Ahora el estímulo control produce una respuesta diferente (B') en la célula piramidal, siendo B' de mayor frecuencia que B. Se ha producido una facilitación de esta sinapsis.

Así, se demostró que si se aplicaban estímulos de elevada frecuencia simultáneamente sobre las colaterales comisurales y de Schaffer (presinápticas) la respuesta de la célula

piramidal (postsináptica) cambiaba ante el estímulo control. Además, esta variación se mantenía en el tiempo (6).

Lo anteriormente mencionado pone de manifiesto un cambio en este circuito tras la aplicación de estímulos simultáneos a las dos neuronas presinápticas. No obstante, estos cambios solo se producían ante determinadas circunstancias. Por ejemplo, ante elevadas frecuencias se potenciaba la respuesta al estímulo control y a este fenómeno se le llamó «potenciación a largo plazo (PLP)»; sin embargo, ante estímulos de bajas frecuencias se disminuía la respuesta ante el estímulo control y a este fenómeno se le llamó «depresión a largo plazo (DLP)» (6, 17).

De la relación de estas diferentes neuronas se desprenden varias conclusiones:

- Estas conexiones son cooperativas, es decir, se requiere del estímulo de las dos neuronas presinápticas para que se produzca el fenómeno de plasticidad (potenciación o depresión) a largo plazo.
- Este fenómeno de plasticidad es muy específico en cuanto al estímulo se refiere. El tipo de estímulo (por ejemplo, la frecuencia de estimulación) aplicado a las neuronas presinápticas debe ajustarse a unos parámetros concretos.
- Tiene una gran especificidad temporal y requiere que los estímulos sean aplicados en una secuencia temporal concreta.

El proceso subyacente a este fenómeno sobrepasa los términos estrictamente eléctricos y produciéndose cambios de otra índole. Ante un estímulo con las características anteriormente mencionadas (cooperatividad, especificidad del tipo de estímulo y adecuada secuencia temporal), se producen en primera instancia cambios en la neurona postsináptica haciendo que se abran canales iónicos específicos. A su vez, la apertura de éstos provoca la activación de circuitos bioquímicos concretos que provocan que el núcleo de la neurona postsináptica exprese en mayor medida ciertos genes. Este aumento de la expresión de algunos genes hace que se sinteticen un mayor número de proteínas. Estas proteínas forman nuevos receptores de neurotransmisor que se disponen en la membrana celular. Estas proteínas también pueden expandir la membrana de la neurona. Ambos fenómenos (aumento de los receptores o expansión de la membrana) permiten una mejor comunicación con neuronas vecinas. Estos cambios, además de ocurrir en la neurona postsináptica, ocurren en la neurona presináptica provocando cambios en la efectividad de la transmisión (9, 11, 17).

Estos mecanismos constituyen un vasto campo de estudio; es importante destacar que dichos fenómenos varían en función de si la modulación se produce antes de que la

neurona involucrada contacte con su neurona vecina (mecanismos presinápticos) o si, por el contrario, dicha modulación se produce en la neurona que recibe el estímulo (mecanismos postsinápticos).

En cualquier caso, estos fenómenos son la base de lo que se denomina plasticidad a largo plazo, tanto PLP como DLP. Se han realizado trabajos en muy diversos modelos experimentales. Tanto *in vitro* como *in vivo* y tanto en invertebrados como en mamíferos, así como en el sistema nervioso central (SNC) y en el sistema nervioso periférico (SNP). Esto parece confirmar que es un fenómeno ampliamente instalado en la biología y con una larga evolución (7, 17).

Este hecho ha permitido inspirar múltiples intervenciones bajo la creencia de que estos fenómenos deben poder observarse en casi cualquier conexión entre neuronas.

Desde las primeras descripciones de PLP y DLP se han descrito varios tipos de plasticidad (pre y postsináptica, en función de los neurotransmisores y mensajeros químicos involucrados, entre otros) así como varios métodos de inducción en hipocampo y en otras estructuras del sistema nerviosos central (variando los estímulos en cuanto a localización, frecuencia, tipo de estímulo e intensidad). Sin embargo, no es el objetivo de este trabajo la descripción detallada de todas las formas de inducir y evaluar la plasticidad en el sistema nervioso central (17).

2. Estimulación no invasiva del sistema nervioso

Tal y como se ha descrito anteriormente, a través de diversos trabajos, se consiguió demostrar y describir estos fenómenos de plasticidad en neuronas aisladas (6, 7, 12, 16, 17). No obstante, se desconocía si las poblaciones de neuronas se comportaban de forma similar a cada una de estas neuronas de forma individual.

Al desarrollarse la tecnología necesaria para estimular de forma no invasiva el sistema nervioso, numerosos autores intentaron abordar esta cuestión.

Con esta posibilidad de estimular de forma no invasiva el SNC (inicialmente la corteza) se podía estudiar el comportamiento de estas poblaciones de neuronas, además de si en su comportamiento también se producen cambios plásticos similares a los descritos en neuronas aisladas.

2.1. Antecedentes

Hoy en día se da por sentado el carácter eléctrico de las comunicaciones eléctricas en el SN. Sin embargo, no siempre fue así.

A lo largo de la historia se han dado diferentes formas de interpretar el sistema nervioso. Cabe destacar la concepción que tuvo Descartes, quien, al observar dentro del SN un sistema de cisternas y ventrículos que contenían un líquido, supuso que era el aumento o disminución de la presión sobre este líquido contenido en ellas (líquido cefalorraquídeo) el que generaba la actividad del SN, dándole a la glándula pineal una labor fundamental en este juego hidrostático (3).

No fue hasta el siglo XVIII cuando Luigi Galvani puso de manifiesto que el paradigma que generaba cambio en el sistema nervioso no era mecánico, sino eléctrico. Son clásicos sus experimentos con preparaciones frescas de rana, a las que seccionaba el nervio ciático y mediante estímulos eléctricos conseguía provocar contracciones de la musculatura de la pierna de dicha rana (figura 3). De este modo demostró que era la energía eléctrica la que provocaba realmente la actividad del SN.

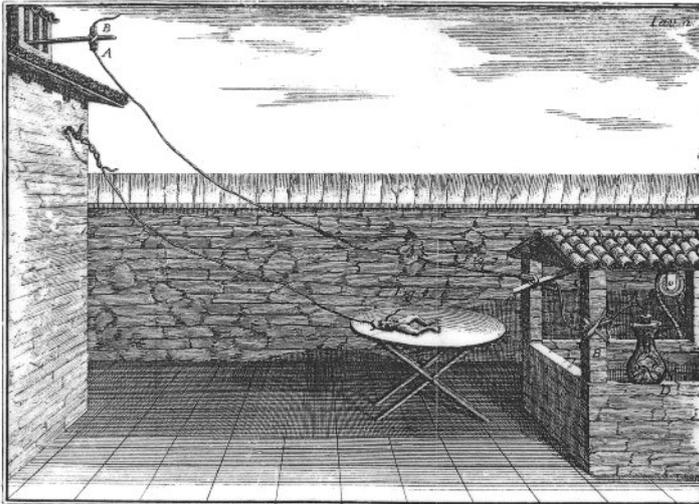


Figura 3. Representación de los experimentos de Galvani en los que el nervio ciático de una rana era conectado a través de un cable a una antena, para captar electricidad estática del ambiente y poder ser estimulado.

Años más tarde Giovanni Aldini, a quien se le puede considerar un nuevo precursor en la estimulación cerebral, descubrió que aplicando corriente eléctrica en el encéfalo de cadáveres humanos conseguía reproducir contracciones faciales (3).

Hacia mediados del siglo xx, el neurocirujano Wilder Penfield, en el contexto de neurocirugías para el tratamiento de pacientes epilépticos, estimuló con bisturíes eléctricos diferentes áreas corticales. Los pacientes estaban conscientes durante la cirugía, por lo que podían ser interrogados sobre sus sensaciones y podían observarse movimientos de las diferentes parte del cuerpo. Esto permitió realizar un mapeo de las áreas de la corteza involucradas en la sensibilidad consciente y el movimiento, y se describieron así las representaciones tanto sensitivas como motoras de la corteza cerebral (homúnculos) (3, 18).

Ya en 1954 y de forma más sistemática Patton y Amassian consiguieron estimular la corteza motora de primates. Al mismo tiempo, registraban la actividad descendente de la vía córticoespinal a nivel de las pirámides bulbares. Con estas preparaciones conseguían evitar la influencia de la neurona motora espinal y lograban discriminar de forma aislada los efectos de esta corriente sobre la corteza cerebral (19).

En 1980 Merton y Morton consiguieron estimular mediante corriente eléctrica directa y de forma extracraneal la corteza motora de sujetos despiertos. A este procedimiento se le conoce actualmente como «Estimulación eléctrica transcraneal» (EET). Este fue un evento sin duda muy significativo, pero la realización de este tipo de estimulación requiere introducir una gran cantidad de corriente a través del cráneo de la persona. Tanto la contracción de la musculatura como la estimulación de múltiples receptores hacen que sea un procedimiento muy doloroso, por lo que pronto disminuyó su uso (20).

En 1985 Baker, consiguió estimular la corteza con un estimulador magnético en lugar de eléctrico; este procedimiento facilitaba la estimulación ya que evitaba las molestias producidas por la EET (21, 22).

La evolución de la estimulación magnética transcraneal (EMT), ha permitido que actualmente se utilice con tres fines diferentes en función del número de pulsos magnéticos que se apliquen sobre el cráneo del paciente o sujeto de estudio:

- Evaluar la excitabilidad cortical, por ejemplo de las células piramidales de la corteza motora, para lo cual suelen utilizarse pulsos simples.
- Evaluar la excitabilidad de los circuitos intracorticales, para lo cual suelen utilizarse pulsos pareados que permiten evaluar diferentes tipos de inhibición y facilitación intracortical.
- Generar cambios plásticos, ya sean del tipo PLP/DLP (lo que pasó a llamarse PLP/DLP-like) para lo cual se utilizan periodos más prolongados de estimulación. Algunos de estos protocolos de estimulación son, por ejemplo: la estimulación magnética transcraneal repetitiva (EMTr) o los estímulos aplicados con diferentes trenes *thetaburst* (TBS).

2.2. Bases fisiológicas de la EMT

Como ya se ha mencionado, la aplicación de estímulos magnéticos sobre la corteza cerebral fue realizada por primera vez por Baker y sus colaboradores en la Universidad de Sheffield en 1985.

Para ello, utilizaron un dispositivo que conseguía almacenar cierta cantidad de corriente y en un momento dado se permitía el flujo de dicha corriente a una bobina metálica o a varias. Esta corriente eléctrica circulando a través de dichas bobinas, según el principio de Michael Faraday, conseguía generar un campo magnético asociado.

A su vez, dicho campo magnético generaba una corriente eléctrica en estructuras conductoras cercanas. Esta corriente eléctrica tiene la característica de orientarse en sentido contrario a la corriente originada en la bobina y es la responsable de modificar el estado eléctrico de las neuronas de la corteza cerebral, tal y como se muestra en la figura 4.

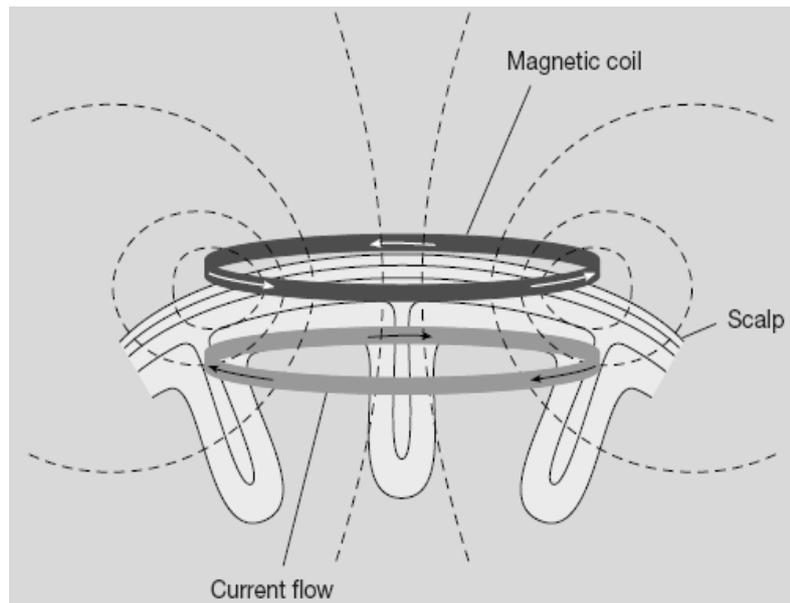


Figura 4. Una corriente eléctrica fluye a través de la bobina o *coil*; ésta genera un campo magnético y a su vez este campo magnético genera una corriente eléctrica de sentido contrario en la corteza cerebral.

El hecho es que la penetración en el cráneo del paciente no se produce a través de una corriente eléctrica, como ocurre en la EET, sino a través de un campo magnético, el cual es el responsable de inducir una corriente eléctrica en la corteza cerebral.

Aunque se ha comentado con anterioridad, conviene destacar de nuevo que la corriente eléctrica de alto voltaje que se utiliza en la EET produce dolor. Ya que, aunque el encéfalo carece de nociceptores, sí se activan estos receptores tanto a nivel cutáneo como muscular en el cráneo.

Por tanto, el uso de la estimulación magnética transcraneal en lugar de la estimulación eléctrica transcraneal (*EET*) permite que la estimulación sea mucho más tolerable para el individuo que recibe la estimulación (23).

Por otra parte, la disposición y formas de las bobinas del estimulador permite producir estímulos de diferentes características (24, 25), como se aprecia en la figura 5.

Un *coil* (dispositivo a través del cual se aplica el estímulo magnético) circular permitirá un estímulo poco focalizado aunque más profundo (figura 5a), mientras que un *coil* en ocho (figura 5b), al solapar dos bobinas a través de las cuales fluyen corrientes en sentidos opuestos, permitirá que parte de los campos generados se contrarresten y por tanto la aplicación esté más localizada en un punto. Por último, existen otros tipos de *coil* que también usan dos bobinas, pero éstas no están dispuestas en el mismo plano, sino que forman un ángulo de 100° entre sí (figura 5c). Esta distribución permite una mayor profundidad en la aplicación del campo y su uso está propuesto para permitir acceder a estructuras algo más profundas en el cerebro.

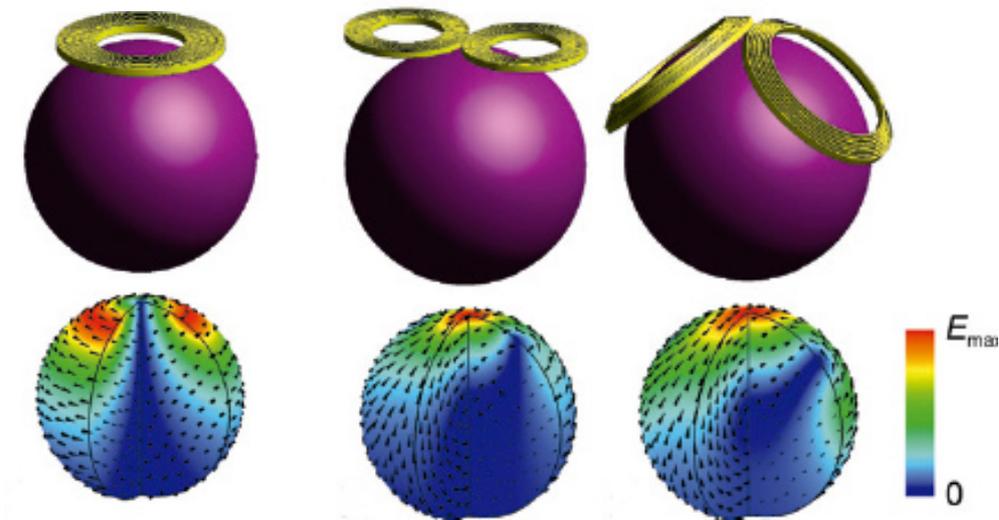


Figura 5a

Figura 5b

Figura 5c

Figura 5. Se representan los diferentes tipos de *coil* para estimulación magnética transcraneal. Debajo se muestra diagrama del campo magnético generado en un modelo de cerebro en un cráneo esférico. La escala de colores representa la magnitud del campo generado en función del campo máximo en el cerebro (E_{max}). Las flechas representan la dirección y sentido del campo. Figura 5a: *coil* circular de 90 mm; figura 5b: *coil* en ocho; figura 5c: *coil* cónico. Fuente: Adaptado de Paulus *et al.*, en Lozano 2013 (23).

2.3. Estimulación mediante pulso único

La estimulación magnética transcraneal (EMT) mediante pulso único genera un campo magnético inducido que produce a su vez una corriente eléctrica sobre una o varias áreas en la corteza, donde produce una despolarización y, por tanto, activa dicho área cortical.

Si aplicamos esta estimulación en diferentes áreas corticales, puede observarse cómo estas áreas comienzan a activarse, expresando su comportamiento habitual. Por ejemplo: si se aplica esta estimulación sobre la corteza visual, el individuo verá fosfenos (26).

La primera diana estudiada fue la corteza motora. Estimulando este área cortical se activa la vía córticoespinal. La activación de esta vía provoca a su vez la activación de las neuronas motoras espinales. Esto a su vez produce la despolarización de la musculatura (figura 6). Esta respuesta muscular es fácilmente observable a través de la electromiografía (EMG). Esta posibilidad técnica ha propiciado que la corteza motora se estableciera como la diana más adecuada para su estudio sistemático.

El parámetro utilizado para medir esa contracción del músculo a través de EMG fue el denominado potencial evocado motor (PEM).



Figura 6. Diagrama del recorrido de la señal desde la estimulación magnética hasta el registro de la actividad muscular

De este modo, cuando se aplica sobre la corteza motora primaria un estímulo lo suficientemente intenso podrá observarse en el EMG un PEM (figura 7).

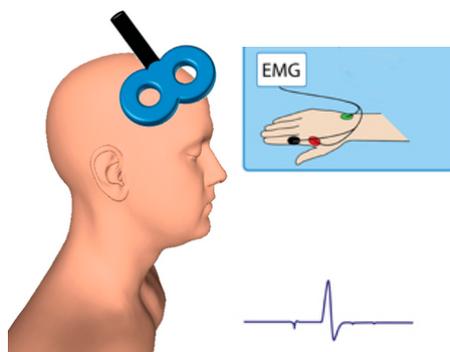


Figura 7. Representación de cómo un estímulo único aplicado sobre la corteza motora genera un potencial evocado motor (PEM) que puede ser registrado mediante EMG. En este caso, se está estimulando sobre el área motora de la mano y se registra un músculo de esta.

Este fenómeno permite estudiar la excitabilidad de la corteza motora definiendo algunos parámetros y la conducción de la señal a través de la vía córticoespinal. Los parámetros más frecuentemente utilizados son los siguientes:

Umbral motor (UM): intensidad mínima con la que es necesario estimular para provocar una respuesta motora. Se mide en porcentaje de la máxima intensidad del estimulador. Puede ser medida en diferentes situaciones (23, 27):

- Umbral motor en reposo (UMR): se define como la intensidad necesaria en la estimulación mediante EMT que consigue evocar un PEM de una amplitud igual o mayor de 50 micro voltios (μV) en el 50 % de los intentos (28).
- Umbral motor en activación (UMA): se define como el umbral cuando el músculo está siendo contraído de forma voluntaria. Se requiere de

nuevo que se consiga un PEM esta vez de 200 μV en el 50 % de los intentos. El UMA es habitualmente menor que el UMR. Esto se debe a una serie de fenómenos corticales y espinales que hacen que, si la vía córticoespinal está activa, el estímulo para conseguir un PEM sea menor (29).

Amplitud del potencial: Hace referencia al tamaño de la despolarización del músculo. La forma más habitual de medirla es la denominada distancia pico a pico, que consiste en medir la amplitud desde el punto más alto al más bajo del potencial evocado motor (figura 8).

Área del potencial: Esta es otra medida que, aunque menos utilizada, también hace referencia a la magnitud de la respuesta. Consiste en medir el área interior que conforma el PEM (figura 8).

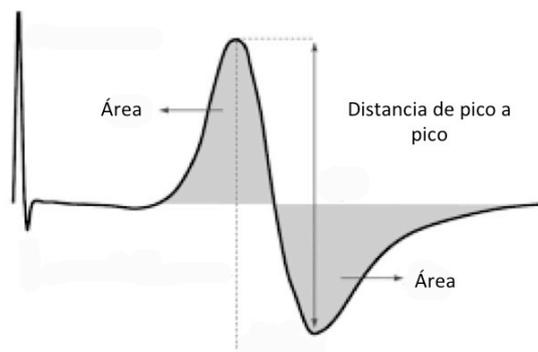


Figura 8. Representación de un potencial evocado motor (PEM). Pueden observarse la amplitud pico a pico y el área.

Curva de reclutamiento del PEM: a medida que se aumenta la intensidad de estimulación va aumentando también la respuesta motora. Este aumento se realiza de forma sigmoide, y aumentando la intensidad puede llegarse a un techo que representa el PEM máximo (28).

Periodo de silencio: cuando se aplica un estímulo sobre la corteza motora existe un periodo en el que el músculo cesa o disminuye su actividad medida con EMG. Este periodo se extiende desde después del PEM y puede prolongarse hasta 300 ms.

Este periodo de silencio tiene dos fases: una fase inicial que viene inducida por mecanismos espinales de inhibición de la neurona motora alfa y dura 50-75 ms y otro periodo posterior que viene determinado por la inhibición intracortical (23). Este parámetro es el único fenómeno inhibitorio que puede medirse con estímulo único.

La corteza motora y el estudio de su excitabilidad observando sus respuestas musculares con EMG es una diana clara tanto para el conocimiento de la fisiología como para plantear posibilidades terapéuticas.

Sin embargo, estas características técnicas no implican que la corteza motora sea la única en poder variar su excitabilidad mediante pulsos magnéticos.

2.3.1. Onda D, onda I1 y ondas I tardías

Continuando con el ejemplo de la corteza motora, podemos afirmar que estimulándola (ya sea con un pulso de corriente, o bien con estímulos magnéticos) puede obtenerse una respuesta en la musculatura que es registrable a través de electromiografía.

Sin embargo, este estímulo eléctrico o magnético aplicado sobre la corteza tiene que ser capaz de mantenerse a través de una o varias sinapsis en su trayectoria, hasta el músculo.

Algunos autores quisieron estudiar qué ocurría en ese trayecto desde la corteza motora hasta el músculo (figura 9). Para ello plantearon diversos modelos experimentales. Todos ellos buscaban tener alguna medida intermedia, es decir, poder registrar los trenes de impulsos que se transmitían a través del haz córticoespinal en algún punto de esta vía. El sitio mas frecuentemente registrado ha sido el registro epidural de la médula espinal cervical.

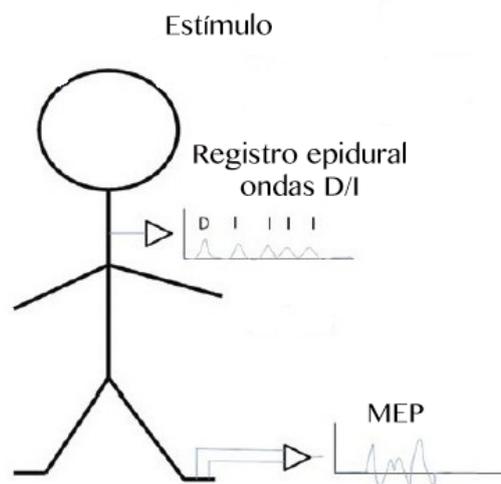


Figura 9: Esquema del modelo experimental en el que se estimula la corteza motora y se registra la señal eléctrica descendente a nivel cervical

Los primeros modelos fueron en primates (19, 29, 30); más tarde, en humanos anestesiados (30) y, finalmente, en sujetos despiertos (29, 30).

De estos trabajos se desprende que cuando la corteza es estimulada ya sea con pulsos de corriente (EET), o bien con estimulación magnética transcraneal (EMT), se producen diferentes tipos de ondas que son registradas en la médula espinal cervical:

- Onda directa (onda D): es la onda de menor latencia, se produce por un estímulo directo de los axones del haz córticoespinal.

Primeramente fue descrita ante una estimulación eléctrica anódica (19) y es la primera onda que puede ser registrada ante este tipo de estimulación. También es posible registrarla con estimulación catódica. Pero en este caso su latencia es ligeramente superior, lo que sugiere en el caso de estimulación catódica que la despolarización del axón se produce algo más alejado del lugar de registro y por tanto más cerca del cuerpo de la neurona (30, 31).

También es posible reclutarla a través de estímulos magnéticos simples aunque requiere de un aumento considerable de la intensidad del estímulo: aproximadamente, 1,5 veces el umbral (30).

- Onda indirecta (onda I1): este tipo de ondas se caracteriza por tener una latencia mayor que la onda D. Es decir, no es una estimulación directa del axón córticoespinal como en el caso de la onda D, sino una estimulación de algunos circuitos corticales (córtico-corticales y tálamo-corticales) que terminan despolarizando a la neurona córticoespinal (19, 31).

Cómo es lógico, este requiere de algo más de tiempo, de ahí su mayor latencia.

La EET también puede evocar, utilizando intensidades muy altas, ondas I1. En los experimentos de Patton y Amassian (19) la estimulación eléctrica epidural (no transcraneal) permitía evocar ondas I1 (y ondas I más tardías), pero este tipo de reclutamiento de ondas I es difícil de obtener por vía transcraneal en un sujeto despierto.

- Ondas indirectas más tardías (*later-I waves*): aumentando la intensidad del estímulo magnético se reclutan otras ondas indirectas cuyo origen todavía no está claro, aunque puede atribuirse también a diversos circuitos corticales.

Un fenómeno característico de estas ondas I tardías es que se repite con cierta periodicidad (1,2-1,5 ms), de forma que ante un estímulo magnético pueden obtenerse una o varias onda I, que se nombran consecutivamente como I1, I2, I3..., y así sucesivamente (23, 31).

2.3.2. Diferencias entre estimulación eléctrica directa y estimulación magnética transcraneal

Si bien es cierto que ambos tipos de estimulación (eléctrica y magnética) pueden teóricamente producir tanto ondas D como ondas I, también es cierto que no lo hacen de la misma manera.

La estimulación eléctrica (EET) induce principalmente ondas D, y sólo si se aumenta significativamente la intensidad del estímulo se producen ondas I (casi exclusivamente I1) (30). En cambio, la estimulación magnética transcraneal (EMT) induce inicialmente ondas tardías, es decir, ondas I. Solo si se aumenta significativamente la intensidad del estímulo aparecerán ondas D (31).

Hasta el momento las diferencias mencionadas entre las ondas directas (D) e indirectas (I) son dos: la latencia y el hecho de que se recluten más fácilmente con un determinado tipo de estimulación; la estimulación eléctrica, en el caso de la onda D, y la estimulación magnética, en el caso de la onda I.

Esto sugirió a algunos autores una diferencia en cuanto al punto en el que se originan las ondas D e I y, por tanto, dónde pueden actuar más fácilmente la estimulación eléctrica y la magnética, respectivamente.

- La onda D, reclutada más fácilmente con EET, posee una menor latencia, lo que sugiere que su origen está en la despolarización directa de los axones del haz córticoespinal, como se muestra en la figura 10 (19).
- Las ondas I son reclutadas más fácilmente a través de la EMT y tienen una latencia mayor, lo que sugiere que no son producto directo de la estimulación de los axones descendentes piramidales, sino que activan interneuronas de la corteza motora que a su vez activan estas neuronas piramidales descendentes (30), figura 10. De hecho, al eliminar quirúrgicamente los cuerpos neuronales de la corteza (sustancia gris) y si se preservan las fibras descendentes (axones), las ondas I dejan de aparecer, mientras que las ondas D siguen siendo visibles (19, 31).

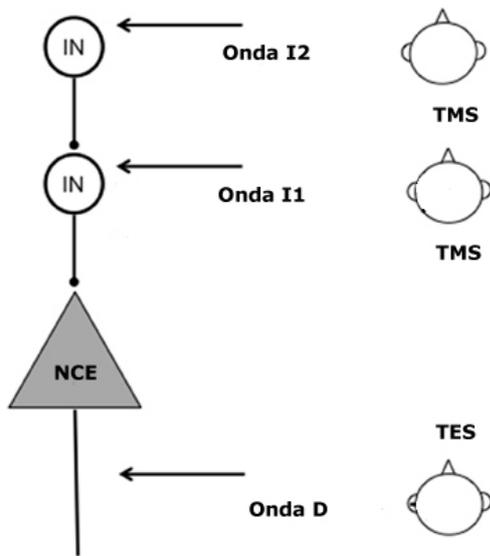


Figura 10. NCE: Neurona Córteoespinal; IN: Interneurona. Las ondas D, más fácilmente reclutables con EET, se originan por la estimulación directa del axón descendente de la neurona córteoespinal. Las ondas I, más fácilmente reclutables con EMT, se originan por la estimulación de IN que a su vez activa a la neurona córteoespinal, de ahí su mayor latencia.

En la siguiente tabla pueden verse a modo de resumen las principales características de las ondas D, I1 e I tardías.

	Onda D	Onda I1	Ondas I tardías (I1,I2,I3...)
Latencia	Corta	Larga	Mayor aún, periódica
Origen	Axón córteoespinal	Circuitos corticales	Circuitos corticales
Medio de reclutamiento principal	Estimulación eléctrica (EET)	Estimulación magnética (EMT)	Estimulación magnética (EMT)

Tabla 1. Principales características de las ondas D, I e I tardías.

2.4. Estímulos pareados

Como su propio nombre indica, este tipo de estimulación consiste en aplicar dos estímulos magnéticos de forma consecutiva.

El objetivo principal de estas técnicas consiste en aplicar un primer estímulo condicionante en la corteza motora del sujeto; este estímulo se realiza habitualmente en la región que representa la mano y a intensidades por debajo del umbral motor, por tanto, sin respuestas motoras. Posteriormente, se aplica otro estímulo condicionado,

habitualmente a intensidad supraumbral y por tanto puede registrarse la actividad resultante en el músculo en forma de PEM.

En función de la intensidad y de la separación entre estímulos, se describen diversos efectos:

- *SICI (short interval intracortical inhibition)*: cuando la separación entre el primer estímulo y el segundo es de 5 ms o menor, se consigue una inhibición de la actividad descendente (no afecta a la onda I1, pero las ondas I tardías sí se ven disminuidas) y también de la actividad registrada en el músculo diana (PEM) (23).
- *ICF (intracortical facilitation)*: cuando el intervalo entre los dos estímulos es de 10-40 ms, existe una facilitación de la actividad descendente y de los PEM registrados en el músculo (31).
- *LICI (long latency intracortical inhibition)*: si se aumenta más aún el intervalo entre estos dos estímulos llevando a 50-200 ms se produce de nuevo una inhibición tanto de la actividad descendente en los axones córticoespinales como en los PEM de la musculatura (23).

Actualmente se acepta que estos fenómenos de facilitación e inhibición son producto de mecanismos corticales, ya que estos estímulos pareados consiguen modular no sólo la respuesta motora registrada electromiográficamente (PEM), sino también las ondas I1 e I tardías, cuyo origen cortical ya ha sido expuesto con anterioridad. Además, estos fenómenos pueden verse modificados al utilizar fármaco que modifiquen la receptibilidad de las sinapsis corticales (23).

2.5. Estimulación repetitiva

Adoptando una visión global de lo expuesto hasta el momento, puede resumirse que:

- En primer lugar, se han descrito algunos fenómenos plásticos del SN, especialmente de neuronas aisladas. Cuando se estimula una neurona, bajo determinadas circunstancias, pueden generarse cambios en la comunicación (sinapsis) con otras neuronas. Si estos cambios son duraderos se denominan PLP o DLP.
- En segundo lugar, se ha expuesto cómo es posible estimular las poblaciones de neuronas (corteza cerebral) de forma no invasiva y que además existen formas de medir los efectos producidos por esta estimulación cortical.

En la evolución de las neurociencias, un paso lógico para muchos grupos fue el intentar combinar estos dos fenómenos. Se utilizaron para ello métodos no invasivos como

aplicar estímulos sobre poblaciones de neuronas (y no únicamente sobre neuronas aisladas) y comprobar si se producían cambios plásticos en estas poblaciones.

Este planteamiento es la idea principal de la utilización de estimulación repetitiva sobre la corteza cerebral. En este capítulo se describirán las opciones más frecuentemente utilizadas para generar cambios plásticos duraderos en la corteza cerebral, prestando especial atención a la corteza motora.

2.5.1. Protocolo EMTr (Estimulación Magnética Transcraneal repetitiva)

En directa analogía con lo que ocurría en células aisladas (por ejemplo: del hipocampo), cuando se aplican trenes de impulsos repetidos con EMT sobre la corteza motora, se producen cambios en su excitabilidad.

Esta variación depende de cómo se combinen la intensidad de estímulo, la frecuencia de estímulo y el tiempo de estimulación.

Generalmente, cuando se aplican trenes de estímulo de baja frecuencia (1-2 Hz) se produce una inhibición, mientras que cuando se aplican estímulos de alta frecuencia (≥ 5 Hz) se produce un aumento de la excitabilidad (23, 32).

Estos cambios pueden además mantenerse en el tiempo y, aunque los mecanismos exactos no son conocidos en profundidad, guardan analogía con los cambios descritos como PLP y DLP, de ahí que frecuentemente se denominen PLP/DLP-like.

Estos protocolos de EMTr fueron ampliamente estudiados no sólo desde el punto de vista fisiológico en experimentación animal y en sujetos sanos, sino también en el ámbito clínico. Mostraron ser seguros (32) y han sido utilizados en múltiples situaciones clínicas. Un ejemplo característico es la utilización de estos protocolos en pacientes con hemiparesia, en los cuales se consigue influir en la recuperación de la actividad de la mano afectada a través de la estimulación a alta frecuencia del hemisferio lesionado o mediante estimulación a baja frecuencia del hemisferio no lesionado (33, 34). A pesar de estos resultados, la bibliografía en este ámbito es incierta debido especialmente a la gran variabilidad de los mismos (35).

2.5.2. Protocolo TBS (*theta burst*)

Si bien es cierto que los protocolos EMTr producen cambios análogos a los cambios plásticos PLP/DLP (PLP/DLP-like), algunos autores sugieren algunas limitaciones en este tipo de protocolos de estimulación repetitiva (36):

- Seguridad: en humanos no se utilizaban frecuencias mayores de 10 Hz, a pesar de que en experimentación animal se habían usado frecuencias mayores.

- Dificultad para determinar los efectos: diversos estudios mostraban una gran variabilidad en los efectos entre diferentes individuos.
- Duración del efecto: los cambios producidos rara vez se prolongan más allá de 30 minutos.
- Tiempo de intervención: el tiempo de aplicación para obtener resultados es excesivamente largo.

Estas limitaciones producían, en la opinión de Huang y colaboradores, unos resultados clínicos excesivamente variables (36).

Paralelamente, Larson y Lynch habían descrito que, en el hipocampo (CA1), las células piramidales utilizaban un patrón theta de disparo (3-7 Hz, trenes de impulsos separados por 200 ms), y sobre las fases positivas y negativas de estas ondas theta se sumaban otras ondas de mayor frecuencia (37, 38). Debe recordarse que este patrón theta forma parte de los ritmos de activación propios del encéfalo que son registrables a través de electroencefalografía (EEG).

Con estos datos, algunos grupos habían utilizado protocolos de estimulación que incluyeran este patrón theta de estimulación tanto *in vitro* como *in vivo* (39, 40), consiguiendo cambios PLP/DLP.

Resumiendo la información expuesta en este apartado:

- Por un lado, los ritmos artificiales con frecuencias constantes (EMTr) mostraban varias limitaciones.
- Por otro lado, existen otros ritmos propios del SN que podemos ver en el EEG y, además, un área muy vinculada al fenómeno PLP y DLP (hipocampo) utilizaba uno de estos ritmos específicos para comunicarse (theta).
- Por último, la experimentación animal había mostrado buenos resultados con estos ritmos theta para producir cambios PLP/DLP.

Con todos estos antecedentes Huang y sus colaboradores adaptaron el protocolo TBS para que fuese aplicable a la corteza motora a través de un estimulador magnético transcraneal (36).

Los estímulos magnéticos se aplican en trenes de impulsos característicos. Un tren se conforma de 3 impulsos con una frecuencia de 50 Hz y este tren de impulsos es repetido cada 200 ms, 5 Hz (figura 11).

Estos trenes de impulsos fueron aplicados inicialmente sobre la corteza motora siguiendo varios paradigmas (figura 11):

- *Theta burst* continuo (cTBS): se aplica el protocolo TBS de forma continua durante 40 segundos. Esto supone un total de 600 pulsos.
- *Theta burst* intermitente (iTBS): se aplican estimulación TBS durante 2 segundos de forma intermitente cada 10 segundos. De este modo el protocolo durará 190 segundos. El número total de pulsos será también de 600.
- *Theta burst* intermedio (imTBS): la estimulación TBS se aplica durante 5 segundos y se repite cada 15 segundos; de nuevo, el número total de pulsos será de 600 y en este caso la intervención dura 110 segundos.

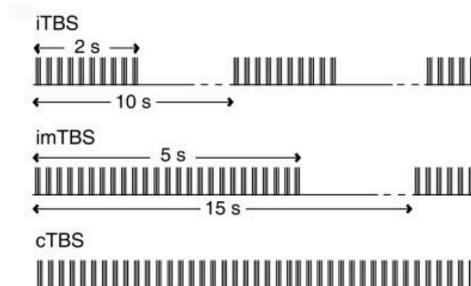


Figura 11. Esquema de los protocolos TBS utilizados por Huang y colaboradores. El patrón básico es de tres estímulos con una frecuencia de 50 Hz cada 200 ms. iTBS (intermitente), ImTBS (intermedio), cTBS (continuo). Los tres protocolos implican la misma cantidad de estímulos, de ahí que el tiempo de aplicación varíe de uno a otro.

Hubo varios elementos sorprendentes en esta descripción inicial:

1. Por un lado, que los diferentes protocolos, aun teniendo como base el patrón TBS, mostraron efectos muy distintos. Así, el cTBS producía inhibición de la excitabilidad de la corteza motora, con una supresión de los PEM; por el contrario, el iTBS producía un aumento de la excitabilidad cortical que se veía reflejada en una facilitación de los PEM. Respecto al imTBS, no producía variación significativa de la excitabilidad cortical (figura 12).
2. Otro elemento destacable fue que con tiempos de estimulación muy reducidos (40-190 s) se consiguen efectos PLP/DLP-like que son además más duraderos que en el caso de la EMTr, llegando a ser de hasta una hora en el caso de cTBS.
3. Además, gracias al análisis de la estimulación pareada (36) y sus efectos sobre SICI (*short interval intracortical inhibition*) e ICF (*intracortical facilitation*) así como a estudios farmacológicos (41), se consiguió demostrar que estas variaciones en los PEM se debían a modificaciones en los circuitos intracorticales y no en la médula espinal.

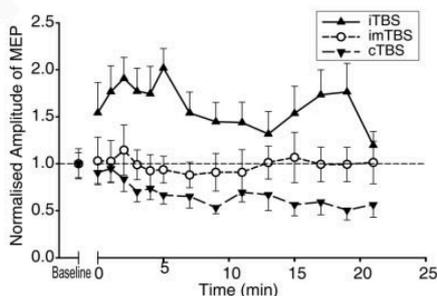


Figura 12. Efecto de los diferentes protocolos TBS sobre los PEM. La estimulación intermitente TBS (iTBS) provoca un aumento de los PEM que se prolonga hasta los 15 minutos aproximadamente. Por el contrario, la estimulación continua (cTBS) produce una inhibición de los PEM que se prolonga durante 60 minutos. La estimulación intermedia (imTBS) no tiene efecto sobre los PEM.

2.5.3. Efectos de la cTBS sobre la onda I1

Centrándonos en los elementos más concretos y relevantes para el desarrollo de esta tesis y como se ha expuesto anteriormente, el protocolo cTBS propuesto por Huang *et al.* provocó una disminución de la respuesta motora (PEM). Dicha disminución se debía a una modulación de la excitabilidad de la corteza motora y ésta se prolongó en el tiempo. Estas adaptaciones son sugestivas de cambios plásticos PLP/DLP-like de los circuitos de la corteza motora.

Di Lazzaro (42) se propuso profundizar en la relación entre estos cambios corticales y la disminución de la respuesta motora. Para ello registró las ondas descendentes directas e indirectas (ondas D e I) de sujetos que tenían implantados electrodos cervicales para el control del dolor.

Al aplicar sobre estos sujetos el protocolo cTBS, encontró que esta estimulación es capaz de inhibir selectivamente la onda I1, sin afectar significativamente a la onda D ni a las ondas I más tardías.

Como se ha citado anteriormente, la onda D tiene su origen en la propia neurona piramidal y, al no verse afectada, puede interpretarse que la cTBS no modifica esta neurona descendente directamente, sino que la inhibición tiene que estar en otro punto previo, en otras neuronas que traten de excitarla.

Por tanto, puede afirmarse que de entre todos los circuitos que pueden modular la excitabilidad de la neurona motora descendente solo se afectan aquellos circuitos que generan la I1. Es decir, aquellas neuronas que sinaptan directamente con la neurona córticoespinal.

3. Arco reflejo y reflejo H

En este capítulo describiremos los circuitos básicos de la médula espinal, base sobre la que desarrollará este trabajo.

Un reflejo puede definirse como una respuesta automática e involuntaria que produce un ser vivo ante un estímulo determinado. Generalmente, las respuestas son respuestas motoras, aunque existen otros tipos de respuestas. De hecho, para centrar el ámbito se obviarán aquellos reflejos que producen otras respuestas tales como la secreción de sustancias por determinadas glándulas.

Estos reflejos que provocan respuestas motoras se encuentran en los distintos niveles del SN. Existen reflejos propios de la médula espinal, pero también en el tronco del encéfalo.

Además de por su localización, pueden clasificarse por su complejidad. Existen reflejos polisinápticos y monosinápticos. Los polisinápticos involucran a multitud de neuronas y controlan comportamientos complejos (por ejemplo: reflejo vestíbulo-ocular), mientras que los monosinápticos controlan comportamientos menos sofisticados (por ejemplo: reflejo miotático).

En cualquier caso, estos reflejos juegan un papel relevante en el control del movimiento. Ejercen una influencia notable; no la única, pero sí importante, sobre el comportamiento de la neurona motora espinal. Esta neurona motora espinal o vía final común, como la denominó Charles Sherrington (43), es a la postre la encargada de controlar el músculo y por tanto el movimiento y la postura.

3.1. Reflejo miotático

El reflejo miotático ha sido ampliamente estudiado en la literatura (44). Básicamente, responde a la descripción de que ante el estiramiento de un músculo, dicho músculo reacciona contrayéndose para evitar o disminuir dicho estiramiento.

Inicialmente se pensó que este comportamiento respondía a propiedades elásticas del propio músculo. Sin embargo, Sherrington a principios del siglo XX demostró que este comportamiento se abolía cuando se seccionaban las raíces anteriores o posteriores de la médula espinal. Con ello demostró que el reflejo miotático requiere de una raíz sensitiva que se origina en el propio músculo, y llega a la medula espinal, y de una raíz motora originada en la propia médula espinal que llega de nuevo al músculo (43).

3.1.1. Componentes del reflejo miotático

Su origen está en un receptor específico, el huso muscular (figura 13). Este receptor consta de tres partes diferenciadas:

- *Fibras sensitivas tipo Ia:* se originan en la parte central del huso muscular, se despolarizan al distenderse dicha parte central, transmitiendo el estímulo hacia la médula espinal. Estas fibras sensitivas son de gran calibre y están mielinizadas, por lo que propician una velocidad de conducción rápida.
- *Fibras intrafusales:* grupo de fibras musculares situadas en los polos del receptor. Al contraerse, tienen la capacidad de aumentar la tensión sobre la parte central del receptor y, por tanto, facilitar su excitabilidad.
- *Gamma motoneuronas:* son neuronas motoras que terminan en los polos del huso muscular. Proviene de la médula espinal y tienen la capacidad de despolarizar (activar) las fibras intrafusales, constituyendo un mecanismo de control sobre la propia excitabilidad del huso muscular.

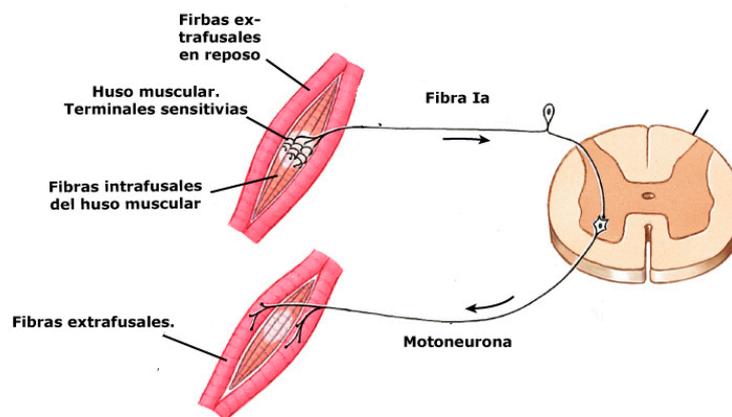


Figura 13. Arco reflejo. Ante un aumento de la tensión en el huso muscular, este activa las fibras sensitivas (Ia) (2) y el estímulo se transmite hacia la médula espinal donde despolariza a la alfa motoneurona (3) que provoca la contracción del músculo.

Esta estructura básica es lo que se denomina habitualmente «arco reflejo», es una entidad anatómica, la cual constituye una unidad funcional que permite entender este comportamiento reflejo básico.

Ante un estímulo de estiramiento del músculo, y debido a que el huso muscular se dispone en paralelo al mismo, se produce también un estiramiento de éste. Si dicho estímulo es suficiente como para ser detectado por las terminales nerviosas sensitivas del huso muscular, será transmitido por las *fibras Ia* hacia la médula espinal. Una vez allí, el estímulo penetrará por el asta posterior para hacer una sinapsis con la alfa

motoneurona que provocará una contracción homónima, es decir, del mismo músculo que generó el estímulo.

3.1.2. Otros fenómenos relacionados

Existen multitud de fenómenos estrechamente relacionados con el reflejo miotático que merecen mención, por su implicación en el control del movimiento:

- Contracciones heterónimas: tal y como se ha descrito anteriormente. Las fibras Ia, llegan a la médula espinal donde establecen una sinapsis con las alfa motoneuronas. Dichas neuronas se prolongan hasta el músculo donde se ha originado el estímulo. Además, las motoneuronas espinales, también se conectan directamente con motoneuronas que inervarán músculos agonistas. De este modo, facilitarán la contracción de los músculos con una función similar a la del músculo de origen. Es por tanto un mecanismo a nivel medular para la colaboración en sinergias de distintos grupos musculares con funciones similares.
- Inhibición recíproca: las fibras Ia también establece una conexión inhibitoria con músculos antagonistas. Esta inhibición del antagonista se realiza a través de una neurona inhibitoria en la propia médula espinal.
- Motoneuronas gamma: como se ha mencionado anteriormente, estas gamma motoneuronas que se originan en la médula espinal controlan el grado de contracción de las fibras intrafusales y por tanto suponen un mecanismo para regular la excitabilidad del huso muscular. A través de esta regulación constituyen un mecanismo de control del grado de contracción de la musculatura.

3.1.3. Implicaciones clínicas de los reflejos medulares

Desde un punto de vista amplio, la actividad del huso muscular y su integración en la médula espinal es un mecanismo que permite regular el movimiento, no tanto del propio músculo, sino de músculos sinergistas y antagonistas a través de circuitos medulares.

Además, debe tenerse en cuenta que el huso muscular no es el único receptor que tiene influencia motora. De hecho, son muchos los receptores que, directamente o a través de interneuronas en la médula espinal, pueden facilitar o inhibir a las neuronas motoras alfa y por ende tener influencia motora. Ejemplos claros de estos fenómenos son los órganos tendinosos de Golgi, los receptores articulares o los receptores cutáneos (figura 14).

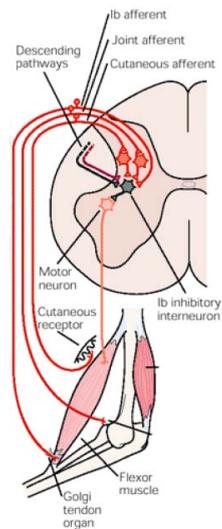


Figura 14. Diversos receptores tienen una influencia sobre las neuronas motoras de la médula espinal, ya sea facilitando su contracción, ya inhibiéndola. En este caso se muestra la influencia inhibitoria de un órgano tendinoso de Golgi de un receptor articular y de un receptor cutáneo. Estos tres receptores (fibras en rojo) llegan a médula espinal donde sinaptan con interneuronas (en negro) para a su vez influir sobre la neurona motora espinal (naranja), que influirá sobre el músculo.

Por tanto, puede decirse que estos reflejos son relevantes para el control del movimiento en condiciones normales y que su alteración produce trastornos del mismo. Por ejemplo: tras múltiples alteraciones del sistema nervioso central pueden alterarse estos circuitos medulares desarrollando entidades como la espasticidad (45-47) con gran impacto en el estado de salud y la funcionalidad de las personas que lo sufren (48).

3.2. Reflejo H

El reflejo H o reflejo de Hoffman fue inicialmente mencionado por Pipper en 1912, aunque sería Hoffman en 1918 quien estudió y describió dicho reflejo en profundidad (49).

Actualmente se considera el reflejo H como el equivalente electrofisiológico al reflejo miotático (49-51), es decir, es la aproximación que existe para medir este arco reflejo (miotático) desde un punto de vista neurofisiológico. El reflejo H mide las características del arco reflejo a través de la electromiografía.

La figura 15 muestra el mecanismo básico de este reflejo H. Para poder medirlo es necesario:

- Un nervio mixto (que incluyan tanto fibras sensitivas como motoras); por ello, inicialmente se describió sobre el nervio tibial posterior. De hecho, la mayoría de la bibliografía que existe al respecto del reflejo H se realiza en este nervio (49, 51).

- Un electromiógrafo que registrará la actividad del músculo diana del nervio mixto seleccionado, habitualmente el músculo sóleo.
- Un estimulador eléctrico que permita despolarizar el nervio en cuestión (tibial posterior).

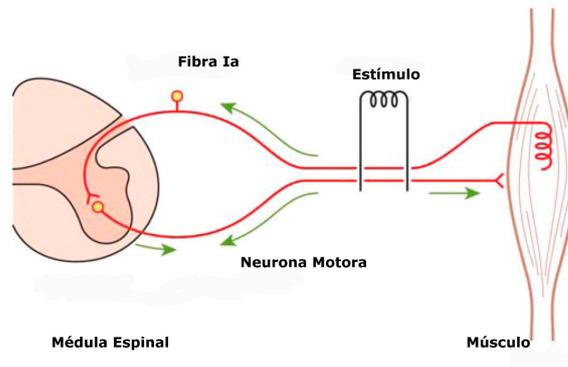


Figura 15. Esquema del montaje para reclutar el reflejo H. Se aplica un estímulo sobre la neurona sensitiva (Ia) y este estímulo viaja a la médula espinal, donde despolariza a la neurona motora (alfa motoneurona) que a su vez despolariza al músculo diana y esta señal será recogida por el electromiógrafo.

Con esta preparación básica se puede aplicar un estímulo sobre el nervio que provocará una despolarización de las fibras sensitivas. Este estímulo viaja hasta la médula espinal donde entra por el asta posterior y llega hasta la región motora. Allí despolariza las alfa motoneuronas encargadas de provocar la contracción del músculo. Esta contracción será registrada por EMG originando la onda H (o reflejo H) como se muestra en la figura 16.

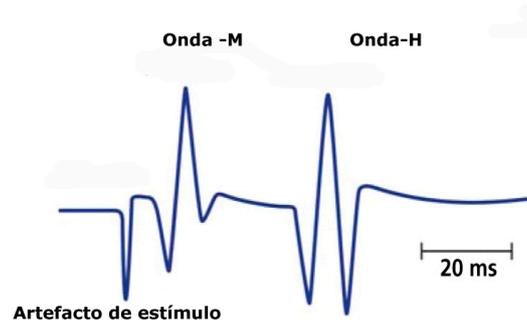


Figura 16. Representación del registro electromiográfico de la onda H y la onda M. La onda M es de menor latencia que la onda H.

Esta onda H es registrable en torno a 23-29 ms después de haber aplicado el estímulo (52), aunque estos datos son ligeramente variables en función de la población. Si se aprecia un aumento de esta latencia, se considera como indicador de patología (52, 53).

Paralelamente a la despolarización de estas fibras sensitivas, puede producirse una estimulación directa de los axones de las alfa motoneuronas por acción del estímulo eléctrico. Si esto ocurre, se podrá observar una despolarización del músculo previa a la onda H. A dicha onda de menor latencia se le denomina onda M. Es necesariamente más temprana, ya que su reclutamiento no exige el viaje hasta la médula espinal del estímulo ni la sinapsis con la alfa motoneurona (figura 16).

3.2.1. Relación entre onda H y onda M

La interacción entre la onda H y la onda M sigue un comportamiento característico en el que:

- Las fibras sensitivas (la, necesarias para que se produzca la onda H) son de mayor calibre y por tanto de menor umbral, y se despolarizan con un estímulo eléctrico de menor intensidad.
- Las fibras motoras (alfa motoneuronas, necesarias para que se produzca la onda M) tienen un menor calibre y por tanto un mayor umbral; requieren de un estímulo eléctrico mayor para su despolarización.

Esto hace que el umbral de la onda H sea menor que el umbral de la onda M. Por tanto, si se van aplicando estímulos sobre el nervio de intensidad creciente, la onda H es la primera en ser reclutada. A medida que aumenta la intensidad del estímulo pasará a reclutarse la onda M, y si se sigue aumentando la intensidad llegará un momento en el que la onda M sea mayor y la onda H desaparezca (54).

Esto se debe a que la despolarización de la fibra motora, además de provocar ortodrómicamente la despolarización del músculo, es conducida antidrómicamente hacia el cuerpo de la alfa motoneurona. Esto producirá eventualmente una despolarización del soma y una posterior repolarización que entrará en conflicto con el estímulo proveniente de la neurona sensitiva la, así la onda H tendrá paulatinamente más dificultad para ser reclutada (49).

3.2.2. Similitudes entre la onda H y la onda I

Tanto la onda H como la onda I son medidas electrofisiológicas de la excitabilidad de una neurona motora:

- La onda I representa la excitabilidad de la neurona motora córticoespinal que va desde la corteza motora a la médula espinal.
- La onda H representa la excitabilidad de la neurona motora espinal que discurre desde la médula espinal a la unión neuromuscular.

Tanto en el caso de la corteza motora como en el caso de la médula espinal existen circuitos que son capaces de inhibir selectivamente la neurona motora de forma presináptica, figura 17.

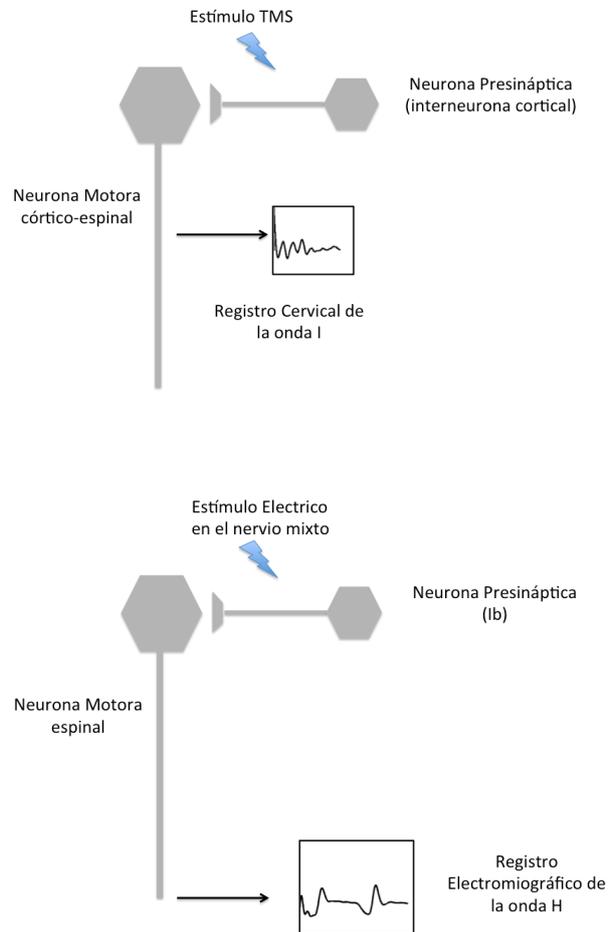


Figura 17. Diagrama del reclutamiento de la onda I (figura 17a) y de la onda H (figura 17b)

Por tanto, puede decirse que existe un paralelismo estructural y funcional entre la corteza motora y la médula espinal, ya que en los dos casos existe:

- Una neurona motora.
- Un circuito presináptico capaz de modular la actividad de esa neurona motora.

Además, tenemos una medida de esta interrelación a través de la onda I y de la onda H.

4. Hipótesis y objetivos

De lo expuesto hasta el momento puede sustraerse:

- En la corteza motora existen circuitos que inhiben selectivamente la neurona motora primaria. Este fenómeno puede medirse a través del registro epidural de la onda I1.
- Existen protocolos de estimulación cerebral no invasiva que son capaces de activar estos circuitos y por tanto de inhibir a la onda I1.
- Entre estos protocolos es especialmente efectivo el protocolo cTBS.
- La arquitectura de la médula espinal y de la corteza motora poseen ciertas analogías. En ambas existe una neurona motora y su excitabilidad puede ser modulada por circuitos inhibitorios.
- Existe un paralelismo entre la corteza motora y la médula espinal.
 - La onda I1 representa el grado de excitabilidad de la neurona motora cortical.
 - El reflejo H representa el grado de excitabilidad de la neurona motora espinal.
- La sinapsis excitatoria que es responsable de la formación de la onda H es más fácil de estudiar que la sinapsis excitatoria responsable de la génesis de la onda I1.

4.1. Hipótesis

Hipótesis conceptual

Una serie de estímulos eléctricos con un patrón cTBS aplicados sobre un nervio periférico produce cambios inhibitorios en la neurona motora espinal.

Hipótesis operativa

La aplicación de estímulos eléctricos con un patrón cTBS aplicados sobre el nervio tibial posterior en sujetos sanos es capaz de producir cambios inhibitorios en la neurona motora espinal y estos cambios se verán reflejados en una inhibición del reflejo H tras la intervención.

4.2. Objetivos

Objetivo principal

Conocer si la aplicación de estímulos eléctricos con un patrón cTBS aplicado sobre el nervio tibial posterior modula la neurona motora espinal modificando la onda H.

Objetivos secundarios

- Definir cómo varía esta modulación a lo largo del tiempo (perfil temporal), en caso de existir modulación de la excitabilidad de la neurona motora espinal.
- Conocer la influencia de la intensidad de la aplicación del estímulo eléctrico con patrón cTBS sobre dicha modulación.
- Conocer la relación del tiempo de aplicación del estímulo eléctrico con patrón cTBS sobre dicha modulación.

5. Sujetos, material y métodos

5.1. Diseño del estudio

Para estudiar la hipótesis propuesta se plantea un estudio que nos permita corroborar los cambios en la excitabilidad de las neuronas motoras espinales de los segmentos lumbosacros ante diferentes tipos de estimulación y en diferentes circunstancias de registro o medición.

Se plantean diferentes experimentos con diseños distintos entre sí. El experimento 1 es un diseño pre-post para la valoración de dosis del tratamiento de Neuromodulación (3 dosis diferentes) con crossover (Cada sujeto recibe las tres dosis en momentos diferentes). El experimento 2 posee también un diseño de experimento control con características pre-post para la valoración de una dosis diferente (prolongada y de baja intensidad). El experimento 3 tiene las características de un estudio de caso-control con diseño paralelo (los sujetos que reciben un tipo de estimulación son diferentes a los que reciben la otra). Al no ser posible una comparación con un estímulo placebo, se ha comparado una intervención con un estímulo eléctrico con patrón cTBS y un estímulo sin patrón (15 Hz).

El trabajo experimental se ha llevado a cabo en el Hospital Nacional de Paraplégicos de Toledo (HNPT), en el Laboratorio de Neurofisiología del grupo FENNSI (Functional Exploration and Neuromodulation of Nervous System Investigation) bajo la dirección del Dr. Antonio Oliviero.

Estas mediciones se realizaron sobre sujetos sanos, reclutados ente el personal del HNPT. Todas las mediciones se realizaron entre los años 2010 y 2015. Algunas observaciones experimentales previas se habían realizado entre el año 2004 y 2009. A continuación se detallan los periodos más relevantes de la realización de los diferentes experimentos:

- Años 2004-2009: Se realizan algunos trabajos experimentales previos, con el objetivo de familiarizarse con la metodología de trabajo y como prueba de concepto.
- Años 2010-2012: Se realiza los primeros experimentos (Experimento 1a).
- Años 2012-2014: Se realizan los experimentos 1b y 2.
- Años 2014-2015: Se realizan los trabajos que componen el experimento 3.

5.2. Sujetos

Criterios de inclusión:

- Sujetos sanos de entre 18 y 50 años.

Criterios de exclusión:

- Toma de miorrelajantes u otros medicamentos que pudieran alterar el registro electromiográfico.
- Antecedentes de patología lumbar, del sistema nervioso central (SNC) o periférico (SNP) que pudiesen alterar las respuestas electromiográficas.
- Referir dolor lumbar o de miembros inferiores en las últimas cinco semanas.

Método de reclutamiento:

- Bola de nieve: esta forma de reclutamiento consiste en que los sujetos aptos para participar en el estudio a su vez identifiquen a otros sujetos potencialmente aptos. Si bien es cierto que esta forma de reclutamiento es típica de estudios de sujetos con características muy específicas, cosa que no ocurre en nuestro trabajo, debido a las relaciones propias de las personas del centro donde se realizó el estudio parecía la forma más adecuada de conseguir dicho reclutamiento.

Para el cálculo del tamaño muestral se utilizó la herramienta web www.simple-size.net con los cambios en la variable H/Mmáx.

El umbral de probabilidad de rechazo de la hipótesis nula (Error tipo I) fue establecido en 0,05 (alpha-two tailed). La probabilidad de rechazo de la hipótesis nula por la hipótesis alternativa (Error Tipo II) se estableció en 0,2 (Beta). La desviación estándar del cambio fue fijada en 0,2. Esta estimación se basó en estudios previos. Basados en estos cálculos la muestra de 8 participantes proporcionaría una potencia del 80% para detectar un cambio del 20% en la amplitud de la H/Mmáx antes y después de la intervención (55).

Habiendo estimado que 8 sujetos eran un número suficiente para detectar los cambios mínimos esperados en la ratio H/Mmáx se decide incluir 12 sujetos por grupo en los experimentos 1 y 3. Se decide incluir 10 sujetos en el experimento 2.

Todos los sujetos fueron informados de manera verbal sobre el proceso experimental en el que iban a participar así como sobre la intervención y se les pidió la firma del

consentimiento informado (anexo 1). Los experimentos fueron aleatorizados con un sistema de sobres cerrados preparados con anterioridad.

Los procedimientos fueron aprobados por el comité ético del hospital y fueron conducidos de acuerdo a la Declaración de Helsinki (anexo 2).

A todos los sujetos se les informó de la inocuidad de la prueba (52, 56) así como de la posibilidad de retirarse de la misma en cualquier momento sin ningún perjuicio para ellos.

5.3. Definición de variables

Antes de describir los protocolos experimentales, resulta conveniente definir algunas variables que son compartidas por los diferentes experimentos.

5.3.1. Intervención / variables independientes

Continuous theta burst (cTBS): estímulo aplicado con el patrón *theta burst*, trenes de tres impulsos aplicados con una frecuencia de 50 Hz; este tren de impulsos se repite cada 200 ms, 5Hz (figura 10). En este caso el estímulo se aplica a través del estimulador eléctrico sobre el nervio tibial posterior.

Estimulación 15 Hz: se decide tener una corriente control. Esta estimulación debe consistir en la misma cantidad de corriente eléctrica, pero sin el patrón theta característico. Para ello se utiliza el patrón de estimulación con una corriente a 15 Hz tal y como definieron inicialmente Huang y colaboradores (36).

5.3.2. Variables de control

Umbral sensitivo (US): consiste en calcular la intensidad de corriente mínima detectada por el sujeto el 50 % de las veces que se aplica un estímulo eléctrico. Para ello se usan estímulos de las mismas características que los que se usan para provocar la onda H (anchura de pulso y localización de los electrodos), aunque se varía la intensidad. Se inicia la estimulación con intensidad de 0,1 mA y se va aumentando progresivamente de acuerdo con la literatura previa (27, 28, 32). El US se utiliza para establecer la intensidad de la intervención en las series de experimentos denominados experimento 1 y experimento 2 (Se detallará en el capítulo 5.5). Por tanto, no se reevalúa tras la intervención.

Umbral de la onda H (UOH): se llama así a la intensidad mínima necesaria que requiere el estímulo eléctrico para que el 50 % de las veces que se aplica consiga reclutar como respuesta una onda H de al menos 50 μ V. Para calcularlo, la intensidad del estímulo (1-20 mA) se aumenta en escalones de 2 mA hasta alcanzar la onda H máxima y después se va disminuyendo progresivamente hasta que se alcanza el UOH. Este umbral se

utiliza para identificar la intensidad de la intervención en el experimento 3 (se detallará en el capítulo 5.5). Por tanto, no se reevalúa tras la intervención.

EMG Background: área del registro electromiográfico basal. Es una variable medida para comprobar que el sujeto está relajado y las variaciones no se deben a un aumento de la actividad de forma voluntaria.

M Máxima (M_{máx}): registro de la amplitud máxima de la onda M que es posible reclutar. Para ello, se aplican estímulos de intensidad creciente hasta que se consigue reclutar una onda M que no aumenta su amplitud aun con estímulos de mayor intensidad.

Edad: edad en el momento del experimento, medida en años desde el nacimiento.

5.3.3. Variables dependientes

Onda H: sin ánimo de redundar en lo expuesto en el capítulo al efecto, se toma como onda H aquella onda que coincide en latencia con la esperada de una onda H y que tiene una amplitud de al menos 0,5 mV (27, 28, 32).

La onda H es especialmente relevante ya que se trata del equivalente electrofisiológico del reflejo miotático, por lo tanto, se utiliza para corroborar si las diferentes intervenciones consiguen modificar la excitabilidad de los circuitos espinales.

Esta onda posee diversos parámetros que pueden ser medidos (área, latencia, amplitud...). Siguiendo las recomendaciones de la literatura se ha utilizado la amplitud (28, 44) valorada como la distancia de pico a pico de dicha onda (figura 18).

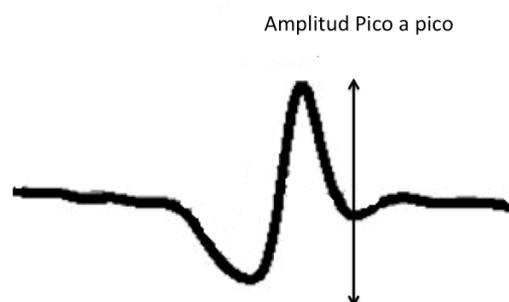


Figura 18. Diagrama de la amplitud de la onda H. Midiendo la distancia pico a pico, es decir, midiendo la distancia lineal desde el punto de deflexión más bajo al más alto de la onda H.

Para asegurar un registro de la onda H estable es necesario que el mismo número de fibras sea estimulado. La forma de garantizar este fenómeno en experimentos de larga

duración es mantener la onda M de forma constante (44). Para ello, se monitoriza la amplitud pico a pico de la onda M cerciorándonos de que dicha amplitud no sufre variaciones de más de un 20 %. Para ello, si es necesario, se varía ligeramente la intensidad de estimulación.

Ratio H/Mmáx: debido a la variabilidad de la onda H, para su tratamiento es necesario utilizar alguna normalización. Este cociente es la forma de normalización más habitual y recomendada en la literatura (44). Se obtiene al dividir la amplitud de la onda H entre la amplitud de la onda Mmáx.

Depresión por estímulos pareados: esta variable se expresa a través de la ratio H_2/H_1 , es uno de los posibles mecanismos involucrados en la modulación de la médula espinal. Para poder evaluarla se utilizan pulsos pareados, como medida del fenómeno de depresión homosináptica (para más información ver capítulo 2.4).

Esta técnica consiste en emitir dos pulsos pareados (figura 19) a través del estimulador eléctrico con un intervalo inter-estímulo de 50 o 100 ms; esta separación se *randomiza* a través del software Signal 4.0 (Cambridge Electronica, Cambridge, UK).

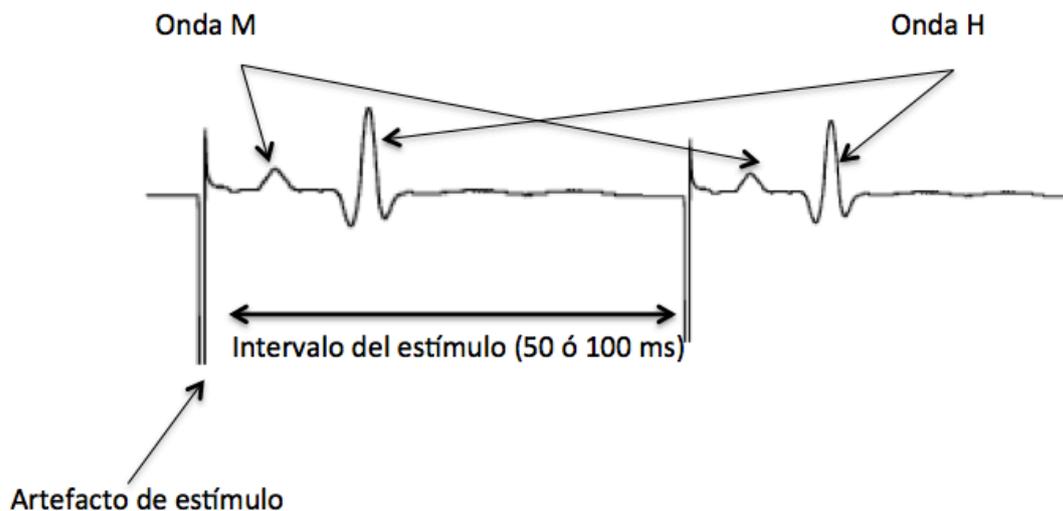


Figura 19. Representación de la estimulación pareada. La ratio H_2/H_1 hace referencia al cociente entre la amplitud pico a pico de la segunda onda H y la primera onda H. La separación interestímulo fue de 50 o 100 ms, estímulos que se aplican aleatoriamente.

El parámetro medido de esta variable es la *ratio H_2/H_1* : este cociente se utiliza como medida de la inhibición producida en una estimulación pareada. Es el resultado de dividir la amplitud pico a pico de la segunda onda H obtenida en un pulso pareado entre la amplitud pico a pico de la primera onda H obtenida en la misma estimulación pareada.

Dolor: en algunos experimentos los sujetos experimentan dolor. Este dolor podría llegar a influir en los resultados (57). Por ello cuando el sujeto experimenta dolor, se

utiliza la escala visual analógica (EVA) que permite graduar de 0 a 10 la experiencia dolorosa, donde cero representa la ausencia de dolor y 10, el máximo dolor imaginable (58, 59).

5.4. Preparación del registro

Cada voluntario se coloca en decúbito prono con el miembro inferior derecho descubierto, de forma que el hueco poplíteo sea fácilmente accesible (anexo 3).

Para el registro se colocan dos electrodos de superficie (Ag/AgCl, 3 cm): uno de ellos sobre el músculo sóleo, en la unión entre los gemelos interno y externo, y otro de ellos sobre el tendón de Aquiles (17), con una separación mínima entre los electrodos de 3 cm, para evitar ruidos en el registro (14). Un tercer electrodo se coloca sobre una eminencia ósea, actuando como electrodo de tierra.

La señal electromiográfica es amplificada y filtrada (1Hz-3 kHz) con un amplificador modelo Digitimer D360 (Digitimer Ltd., Welwyn Garden City, Herts, UK). La señal se registra con una frecuencia de muestreo de 10 kHz, y se digitaliza utilizando el convertidor analógico-digital CED Power 1401 (Cambridge Electronic Design Ltd., Cambridge, UK); asimismo, se almacena en un ordenador para su posterior análisis utilizando el *software* Signal (Cambridge Electronic Design Ltd., Cambridge, UK).

Para la estimulación el reflejo H se evoca en el músculo sóleo a través de la estimulación del nervio tibial posterior ipsilateral en el hueco poplíteo. Para ello se utilizan dos electrodos. El cátodo se coloca en el hueco poplíteo y el ánodo en la cara anterior de la rótula (12).

Se aplican estímulos cuadrangulares de 1 ms con un estimulador Digitimer DS7A (Digitimer, Welwyn. Cambridge Electrónica, Cambridge, UK) validado para su uso en humanos a través de un estimulador (*trigger*) externo.

Una vez localizado el punto de estimulación y registro adecuado se toman unas medidas previas:

- Se calcula el US o el UOH, según el experimento. La intensidad de estimulación a la cual se consigue el US o UOH será la intensidad a la cual se aplica la intervención.
- Se calcula la M_{máx}, para lo cual se continúa subiendo la intensidad del estímulo hasta que la amplitud de la onda M no se ve incrementada aún cuando la intensidad se siga aumentando.

En todos los experimentos realizados, una vez que se ha preparado tanto al sujeto como el instrumental, se comprueba específicamente el *EMG Background* inicial antes

de iniciar el análisis para confirmar que el músculo efectivamente está en reposo y se está registrando apropiadamente. Todos los trazos en los que el músculo no está relajado se descartan, ya sea durante el propio registro (*on-line*), o bien de forma posterior en el análisis de los datos (*off-line*).

5.5. Descripción de los experimentos

5.5.1. Descripción genérica de los experimentos

Los experimentos realizados tienen un modelo básico (figura 21) en el que se prepara al sujeto, el dispositivo de registro y el de estimulación.

Se realizan una serie de medidas previas al registro:

- *EMG Background.*
- US.
- Mmáx.

Una vez tomadas estas medidas, se pasa a realizar el registro previo a la intervención (registro basal o T0); posteriormente se aplica la intervención (variable en cada experimento) y después se vuelven a hacer tres registros cada uno en un tiempo diferente T1, T2 y T3 (inmediatamente después de la intervención, a los 15 minutos y a los 30, respectivamente).

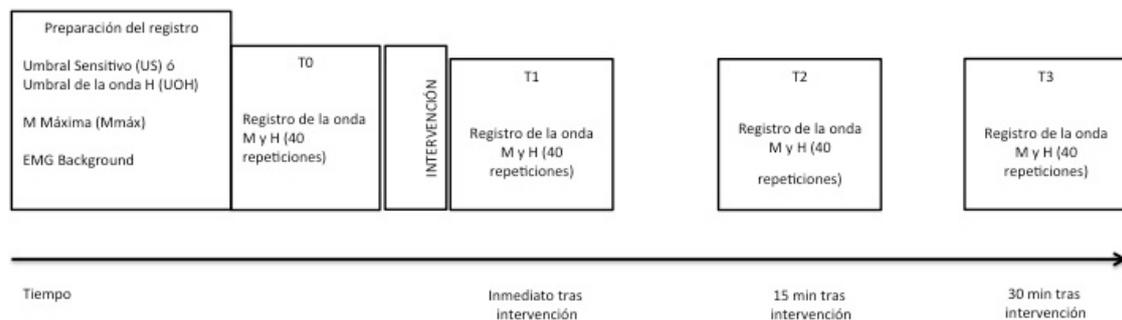


Figura 20. Diagrama de flujo de las distintas fases de cada experimento

5.5.2. Listado de los experimentos

Para poder cumplir el objetivo principal de este trabajo (Conocer si la aplicación de estímulos eléctricos con un patrón cTBS aplicado sobre el nervio tibial posterior modula la neurona motora espinal modificando la onda H) se han diseñado los experimentos sus características principales recogidos en la tabla 2.

	Registro			Intervención		
	Tiempo de registro	Registro	Modelo	Tiempo	Intensidad	Comentarios
Experimento 1a	T0, T1, T2, T3	H	cTBS	5, 20, 40 s	US	
Experimento 1b	T0, T1, T2, T3	H	cTBS	5,20, 40 s	US	M constante*
Experimento 2	T0, T1, T2, T3	H	cTBS	5 min	US	M constante
Experimento 3	T0, T1, T2, T3	H, inhibición, dolor	cTBS, 15Hz	40 s	110%UOH US (solo cTBS)	M constante

Tabla 2. Esquema de los experimentos realizados. T0 (previo a la intervención), T1(inmediatamente posterior a la intervención), T2 (pasados 15 minutos de la intervención), T3 (pasados 30 minutos de la intervención); cTBS (estimulación tipo *Continuous Theta burst*) 15 Hz (estimulación con la misma cantidad de corriente eléctrica pero sin el patrón theta), 110 % Hth (intensidad igual al 110 % de la intensidad necesaria para reclutar la onda H). * La onda M se ha mantenido constante exclusivamente de forma off-line.

Experimento 1

Este primer experimento se realizó en 12 sujetos sanos, con una edad media de 31,58 \pm 5,05.

Para discernir si la estimulación cTBS tenía efecto sobre la modulación espinal así como si esta modulación dependía del tiempo, se aplicaron tres intervenciones de diferente duración (5, 20 y 40 s).

A todos los sujetos se les aplicaron los tres tiempos, aunque cada experimento se realizó con una semana de separación para evitar el efecto acumulativo. El total de experimentos realizados en esta serie es por tanto de 36 experimentos.

El orden de aplicación de estas intervenciones fue aleatorizado a través de un sistema de asignación oculta (sobres cerrados).

A continuación se describen las características de este experimento.

Experimento 1A

Una vez montados los dispositivos para la estimulación y registro se procedió en el siguiente orden:

- *EMG Background*: se utilizó para comprobar que el músculo estaba relajado y no se estaba contrayendo activamente.
- *Umbral sensitivo (US)*: se calculó el umbral sensitivo previo a la intervención (ver capítulo 5.3: «Definición de variables» para descripción detallada).
- *M máxima (Mmáx)*: registro de la amplitud máxima de la onda M que es posible reclutar. Debe recordarse que este dato es un dato absoluto, no modificable por la intervención y será usado en la normalización de los datos.
- *Registro basal (T0)*: se registró la onda H 40 veces y se utilizó el promedio de estos 40 registros (calculado con el *software* Signal 4.0 recomendado por el fabricante) para su posterior análisis.
- *Intervención*: en esta serie de experimentos se utilizó siempre una estimulación tipo cTBS. La intensidad utilizada para la estimulación fue la del umbral sensitivo (US). Se utilizaron tres duraciones diferentes de intervención: 5, 20 o 40 s. En todos los sujetos se realizaron las tres intervenciones con al menos una semana de separación entre una y otra. El orden en el que se aplicaban las intervenciones fue aleatorizado por un sistema de sobres cerrados.
- *T1-T3*: se registró la onda H en tres tiempos posteriores a la intervención. Debe advertirse que durante todo el tiempo el sujeto permaneció despierto y tumbado en la camilla de forma que el dispositivo de medición no sufrió ninguna variación.
 - *T1*: registro de la amplitud de la onda H justo después de la intervención. Se realizaron 40 registros. Se calculó la onda promedio a través del *software* Signal 4.0. El registro de estas 40 mediciones requirió de un minuto.
 - *T2*: registro de la amplitud de la onda H a partir el promedio de 40 mediciones en el minuto 15 después de la intervención.
 - *T3*: registro de la amplitud de la onda H a partir el promedio de 40 mediciones pasados 30 minutos desde la intervención.

Experimento 1B

Al analizar los datos del experimento 1A, se observó que se estaban produciendo variaciones en la onda M. Este fenómeno puede ocurrir en experimentos de larga duración (60) en los que, debido al tiempo prolongado de registro, la onda M puede disminuir ligeramente en el tiempo.

Una misma amplitud de la onda M refleja un número similar de fibras la estimuladas (44), es por tanto necesario que la amplitud de la onda M se mantenga estable durante todo el experimento.

Estas variaciones que se estaban produciendo podían estar variando el resultado del promedio ($H/M_{\text{máx}}$) sin que éste se debiera a una modulación real de la actividad espinal, sino simplemente al hecho de que se estaban excitando un número diferente de fibras nerviosas.

Para evitarlo, se seleccionaron aquellos registros en los que la onda M no sufría una variación con respecto al registro basal y por tanto una cantidad similar de fibras la se reclutaron durante todo el experimento. Se establece la variación máxima aceptada en un 20 % de la amplitud pico a pico de la onda M.

Este experimento 1B no supone, por tanto, una nueva serie de experimentos propiamente dicho, sino un reanálisis de los resultados.

La intención de este análisis fue, por tanto, discriminar si la variación de la amplitud de la onda H en el experimento 1A era realmente una variación de esta onda o era una disminución de la señal paulatina durante el registro.

Este análisis mostró como las variaciones obtenidas en el experimento 1A no eran variaciones reales, sino alteraciones del registro, tal y como se mostrará en la sección de resultados.

Experimento 2 (o la influencia del factor «tiempo»)

El análisis de los datos obtenidos en el experimento 1 (ver apartado de resultados) no mostró diferencias significativas; sin embargo, sí permitió observar que a mayor tiempo de estimulación, mayor efecto se podría obtener. Se decide, por tanto, realizar una segunda serie de experimentos.

La principal idea de esta serie de experimentos fue investigar si el aumento del tiempo de estimulación mejoraba la modulación de la excitabilidad espinal y conocer los mecanismos subyacentes. Para ello, en este experimento 2, se incluyeron algunas diferencias, a saber:

- Se exploraron tiempos de estimulación prolongados (300 s).
- Para evitar la variación de la onda M y por ende del resultado de la ratio H/M debido al factor tiempo, se decidió estabilizar la onda M durante el registro para evitar fluctuaciones de ésta, según lo expresado por diferentes autores (44, 61, 62). A partir de este momento y tras la experiencia adquirida en el experimento 1, se decidió estabilizar esta onda M en todos los experimentos que se desarrollarían en adelante.

Este segundo experimento se realizó en 10 sujetos con una media de edad $33,81 \pm 4,05$. En este caso se aplicó a todos los sujetos una única estimulación cTBS con una duración de 300 s (5 min) con la misma intensidad que en el experimento 1 (US).

De nuevo tras la preparación del registro se realizaron una evaluación inicial (T0) y tres registros posteriores a la intervención (T1, T2, T3).

A continuación se expone el protocolo utilizado detalladamente, una vez montado el sistema de estimulación y registro:

- *EMG background*: se utilizó para comprobar que el músculo estaba relajado y no se estaba contrayendo activamente.
- *Umbral sensitivo (US)*: se calculó el umbral sensitivo previo a la intervención (ver capítulo 5.3: «Definición de variables» para descripción detallada).
- *Mmáx*: registro de la amplitud máxima de la onda M que es posible reclutar. Debe recordarse que este dato es un dato absoluto, no modificable por la intervención y será usado en la normalización de los datos.
- *Registro basal (T0)*: se registró la onda H 40 veces de forma previa a la intervención. Se utilizó el promedio de estos 40 registros (calculado con el *software* Signal 4.0 recomendado por el fabricante) para su posterior análisis.

- *Intervención:* en esta serie de experimentos se utilizó siempre una estimulación tipo cTBS. La intensidad utilizada para la estimulación fue la del umbral sensitivo (US). El tiempo de intervención fue de 300 segundos (5 minutos).
- *T1-T3:* se registró la onda H en tres tiempos posteriores a la intervención. Debe advertirse que durante todo el tiempo el sujeto permaneció despierto y tumbado en la camilla de forma que el dispositivo de medición no sufrió ninguna variación.

La onda M se mantuvo constante durante todos los registros posteriores. Para ello, se varió la intensidad de estímulo ligeramente cuando fue necesario durante los registros T1, T2 y T3.

- *T1:* registro de la onda H justo después de la intervención. Se realizaron 40 mediciones. Se calculó la onda promedio a través del software Signal 4.0. El registro de estas 40 mediciones requiere de un minuto.
- *T2:* registro de la onda H a partir el promedio de 40 mediciones. En el minuto 15 después de la intervención.
- *T3:* medición de la amplitud de la onda H a partir el promedio de 40 mediciones. Pasados 30 minutos de la intervención.

Experimento 3 (o la influencia del factor intensidad)

Podemos avanzar (aunque este aspecto se desarrollará debidamente en el capítulo de resultados) que los datos del experimento 2 tampoco mostraron diferencias significativas. Por tanto, se decidió realizar una nueva serie de experimentos.

En este caso, se exploró la influencia de un aumento de la intensidad del estímulo. Se pasó de una intensidad baja como es la intensidad del umbral sensitivo (US) a una intensidad mayor como es el 110 % del umbral de la onda H (110 % UOH), tal y como habían propuesto otros autores en un trabajo previo (56).

En esta ocasión se aplican tres intervenciones diferentes:

- Por un lado, se aplica una corriente con patrón cTBS durante 40 segundos a una intensidad elevada (110 % UOH).
- También se utiliza una estimulación control a través de una corriente que implica la misma cantidad de corriente e idéntico número de pulsos, pero sin este patrón cTBS. La corriente utilizada es una corriente de 15 Hz de acuerdo con la literatura existente (36). También se aplica a una intensidad elevada (110 % UOH).

- Se incluyó en este experimento una corriente cTBS de 40 segundos a intensidad baja (US) tal y como se utilizó en el experimento 1. El motivo de incluir de nuevo esta intervención es para obtener datos acerca de la inhibición que no fue evaluada en el experimento 1 y además obtener la M constante durante el registro y no hacerlo completamente *off-line*.

Las características más relevantes de este experimento fueron:

- Se estudiaron 26 sujetos, a los que se aplicó una de estas intervenciones, de forma que cada intervención fue aplicada a 12 sujetos diferentes.
- El motivo para elegir tres grupos diferentes (diseño paralelo) y variar el diseño con respecto al experimento 1 (diseño cruzado) fue que, ya que se preveía que algunas de las intervenciones a intensidad elevada podrían ser dolorosas, se prefirió minimizar las pérdidas de muestra a través de esta variación en el diseño.
- Las intervenciones fueron aleatorizadas a través de un sistema de sobres cerrados de forma que tanto el sujeto como el investigador que aplicaba la estimulación y el investigador que analizaba los datos estaban cegados.
- Se midió de forma previa, inmediatamente posterior, a los 15 y 30 minutos de la intervención (T0, T1, T2 y T3).
- Se registró la onda H y además se registró el nivel de inhibición presináptica mediante pulsos pareados.

A continuación se expone detalladamente el protocolo utilizado. Una vez montados los dispositivos para la estimulación y registro:

- *EMG background*: se utilizó para comprobar que el músculo estaba relajado y no se estaba contrayendo activamente.
- *Umbral de la onda H*: se calculó el umbral de la onda H (ver capítulo 5.3: «Definición de variables» para descripción detallada). Una vez registrado este UOH, se anotó la intensidad de estímulo que había sido necesaria. El 110 % de dicha intensidad será la intensidad utilizada para la intervención.
- *M_{máx}*: registro de la amplitud máxima de la onda M que es posible reclutar. Debe recordarse que este dato es un dato absoluto, no modificable por la intervención y será usado en la normalización de los datos.
- *Registro Pre (T0)*: se registró la onda H 40 veces. Este registro inicial incluyó tres modalidades de registro:
 - Registro único de la onda H.

- Registro doble de la onda H con un intervalo de 50 ms (pulsos pareados).
- Registro doble de la onda H con un intervalo de 100 ms (pulsos pareados).

Estos tres registros se obtuvieron de forma aleatoria. La aleatorización se hizo a través del propio programa de registro (Signal 4.0) que se encargaba de lanzar los 40 impulsos. De esta forma ni el experimentador ni el sujeto de estudio podían conocer el orden en el que se reclutarían las 40 medidas de la onda H.

Se utilizó el promedio de estos 40 registros (calculado con el *software* Signal 4.0 recomendado por el fabricante) para su posterior análisis.

- *Intervención:* se aplicaron tres diferentes intervenciones de forma aleatorizada, todas ellas de la misma duración en la que varía la intensidad o el patrón de estimulación
 - 40 segundos cTBS intensidad alta (110%UOH)
 - 40 segundos 15Hz intensidad alta (110%UOH)
 - 40 segundos cTBS intensidad baja (US)
- Se preguntaba si es dolorosa la intervención y en caso de respuesta afirmativa se pasa una escala visual analógica en la que el paciente puede valorar la intensidad del dolor de cero a diez (donde cero es la ausencia de dolor y diez, el máximo dolor imaginable).
- *T1-T3:* se registró la onda H en tres tiempos posteriores a la intervención. Debe advertirse que durante todo el tiempo el sujeto permaneció despierto y tumbado en la camilla de forma que el dispositivo de medición no sufrió ninguna variación.

La onda M se mantuvo constante durante todos los registros posteriores. Para ello, se varió la intensidad de estímulo ligeramente cuando fue necesario durante los registro T1, T2 y T3.

- *T1:* registro de la onda H justo después de la intervención. Se realizaron 40 mediciones. Al igual que en el registro previo a la intervención se aleatorizaron los tres tipos de registro (registro único, registro pareado con 50 ms de intervalo o registro pareado con 100 ms de intervalo). Se calculó la onda promedio a través del *software* Signal 4.0. El registro de estas 40 mediciones requiere de tres minutos.
- *T2:* registro de la onda H a partir el promedio de 40 mediciones. En el minuto 5 después de la intervención. De igual manera se realizaron de forma aleatorizada los tres tipos de registros.

- *T3*: medición de la amplitud de la onda H a partir el promedio de 40 mediciones. Pasados 30 min de la intervención. De nuevo se aleatorizaron los tres tipos de registros de la onda H.

6. Descripción y análisis de los resultados

Los datos se analizaron mediante el software SPSS v.22 para Windows. Todas las pruebas estadísticas se realizaron considerando un intervalo de confianza del 95% (p -valor $<0,05$). La estructuración de estos análisis se llevó a cabo en función de los objetivos establecidos en nuestro estudio, por el método de intención de tratar.

Se procedió a la normalización de los datos para dotar de una mayor robustez estadística a los datos obtenidos, cada medición de la onda H (T0, T1, T2 y T3) se obtuvo 40 veces y se calculó la onda promedio de estas mediciones a través del software Signal 4.0.

En el Experimento 1 y 2 la ratio H/Mmáx fue normalizada dividiendo la H/Mmáx individuales por el promedio de la H/Mmáx en el registro previo a la estimulación (T0).

En el Experimento 1 y 2 la ratio M/Mmáx fue normalizada dividiendo la M/Mmáx individuales por el promedio de la M/Mmáx en el registro previo a la estimulación (T0).

En el caso de los experimentos en los que se realizó estimulación pareada, se ha utilizado la ratio H2/H1; se diferenciaron las medidas en función del intervalo interestímulo (50-100 ms).

En el Experimento 3 la ratio H/Mmáx fue normalizada dividiendo la H/Mmáx individuales por el valor en T0 de las H/Mmáx individuales.

En el Experimento 3 la ratio M/Mmáx fue normalizada dividiendo la M/Mmáx individuales por el valor en T0 de las M/Mmáx individuales. A continuación, se realizó un análisis descriptivo de las variables Los datos sociodemográficos y neurofisiológicas mediante la media y la desviación estándar. Para analizar la diferencias entre las intervenciones se utilizó la prueba T de student para muestras pareadas. Para analizar los distintos momentos de las mediciones se realizó un modelo general lineal de medidas repetidas.

6.1 Resultados.

El diagrama de flujo de los experimentos se muestra a continuación. Un total de 58 pacientes fueron seleccionados para participar en el estudio, no hubo pérdidas ya que fueron valorados y medidos sujetos hasta llegar al número calculado en el tamaño muestral. Finalmente se distribuyeron los sujetos, de forma que 12 fueron al experimento 1, 10 al experimento 2 y 36 al experimento 4 . Todos los participantes completaron las sesiones presenciales de valoración y medición.

La muestra en su conjunto estaba formada por 31 hombres (53%) y 27 mujeres (46%), con una edad media de edad de 38(\pm 7) años, con una talla 171 (9.45) cm, con un peso 63.64 (11.28) kilos y un IMC de 21.43 (2.40).

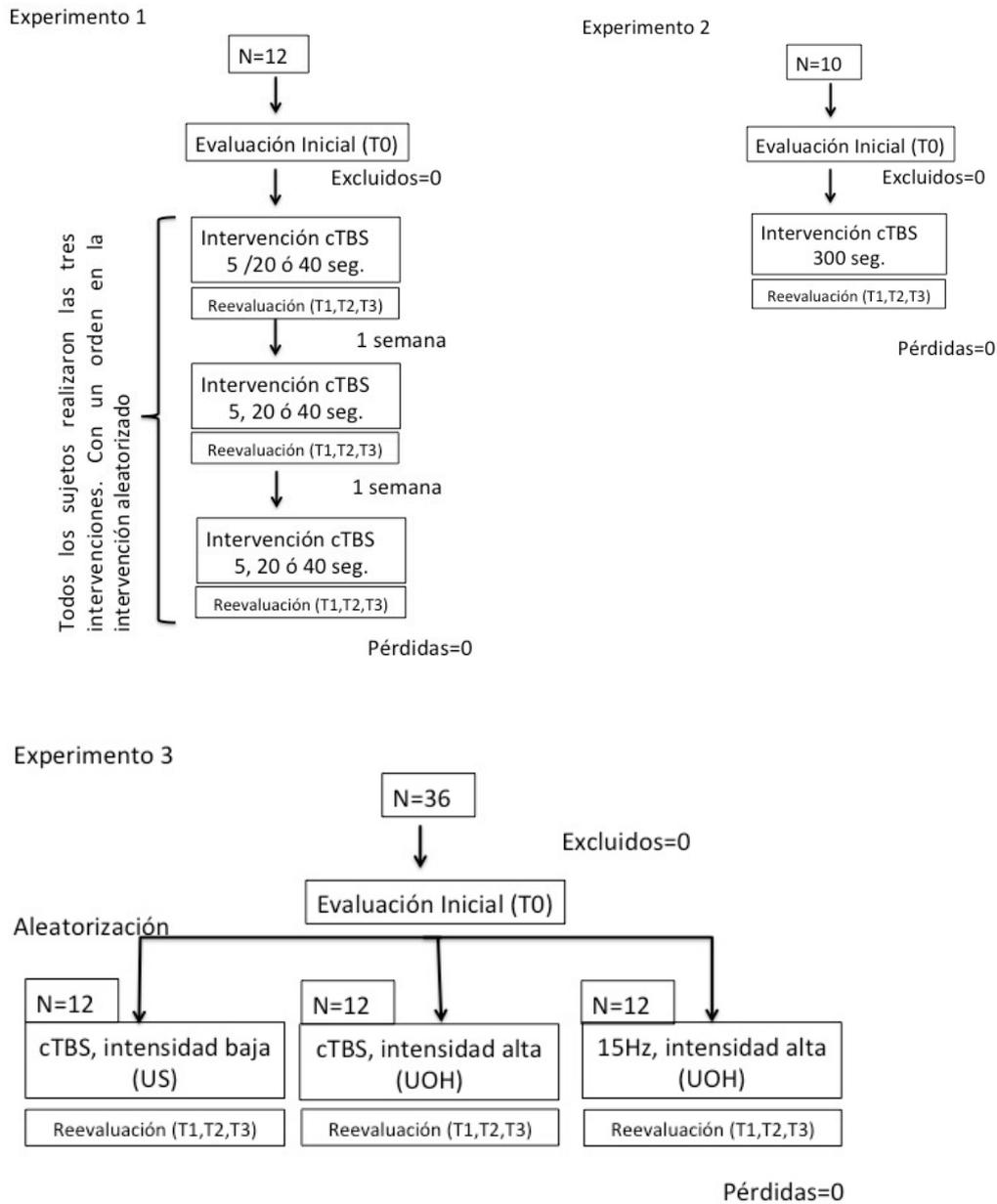


Diagrama de flujo de cada uno de los experimentos realizados.

6.2. Variables demográficas y neurofisiológicas

Se analizaron las variables demográficas y neurofisiológicas en el registro basal entre los participantes de los diferentes experimentos para comprobar su comparabilidad tabla 3. No hubo diferencias significativas entre los diferentes grupos. Se expresan estos datos en promedio y desviación estándar.

Experimento	Intervención	n	M (promedio, D. estándar)	H (Prom, Desv Est)	Mmáx (Prom, D.Est)	Edad
Experimento 1a	cTBS 5 s	12	4,38 ± 3,18	6,72 ± 4,97	12,79 ± 9,50	31,58 ± 5,05
	cTBS 20 s	12	3,31 ± 2,97	5,52 ± 4,59	14,67 ± 10,4	
	TBS 40 s	12	3,04 ± 2,92	4,95 ± 3,92	14,07 ± 9,98	
			T. Test p > 0,05	T. Test p > 0,05	T. Test p > 0,05	
Experimento 1b	cTBS 5 s	12	4,29 ± 3,93	5,47 ± 5,07	8,85 ± 2,00	31,58 ± 5,05
	cTBS 20 s	12	3,45 ± 3,03	6,32 ± 4,47	9,45 ± 3,07	
	cTBS 40 s	12	2,38 ± 2,56	6,31 ± 3,28	10,21 ± 3,06	
			T. Test p > 0,05	T. Test p > 0,05	T. Test p > 0,05	
Experimento 2	300 s	10	2,40 ± 0,94	5,35 ± 2,38	20,108 ± 7,11	33,81 ± 4,05
Experimento 3	cTBS US	12	2,7 ± 2,1	5,2 ± 1,9	18,7 ± 7,1	33,0 ± 10,2
	cTBS 110 % UOH	12	2,1 ± 1,1	4,2 ± 2,5	20,4 ± 5,4	32,2 ± 9,6
	15 Hz 110 % UOH	12	2,9 ± 2,5	3,9 ± 1,7	16,3 ± 6,3	35,6 ± 8,3
			T. Test p > 0,05	T. Test p > 0,05	T. Test p > 0,05	

Tabla 3: Datos basales de los experimentos 1, 2 y 3 expresados en media y desviación estándar

6.3. Análisis de los datos

Se muestran los datos como media y error estándar de la media. Los principales parámetros medidos fueron:

1. H/Mmáx: amplitud pico a pico del reflejo H normalizado con la amplitud pico a pico de la Mmáx.
2. H2/H1: media del cociente H2/H1 en los intervalos de 50 y 100 ms.
 - a. Media H2/H1 50 ms.
 - b. Media H2/H1 100 ms.
3. EVA, media de los valores de la escala visual analógica referidos por los sujetos (esta medida fue exclusiva del experimento 3 en el que se utilizó una mayor intensidad de estímulo). Los valores de la EVA fueron comparados usando un T. Test (*UNPAIRED T TEST*).

En el experimento 1A y 1B se utilizaron dos ANOVAs separadas de medidas repetidas sobre los valores normalizados para los factores TIEMPO (T0, T1, T2 y T3), VARIABLE

(M/Mmáx, H/Mmáx) y DURACIÓN DE LA INTERVENCIÓN (5, 20 y 40 segundos). Los test *post hoc* se realizaron usando Tuckey Honest.

En el experimento 2 se utilizó una ANOVA de medidas repetidas sobre los valores normalizados para los factores TIEMPO (T0, T1, T2, T3), VARIABLE (M/Mmáx, H/Mmáx). Los test *post hoc* se realizaron usando Tuckey Honest.

En el experimento 3 se utilizó una *MIXED FACTORIAL ANOVA* (ANOVA CON DISEÑO FACTORIAL MIXTO) sobre los valores normalizados para los factores TIEMPO (T1/T0 y T2/T0), VARIABLE (H/Mmáx, H2/H1) y PROTOCOLO (cTBS 110 % UOH, 15 Hz 110%UOH, cTBS US). Los test *post hoc* se realizaron usando Tuckey Honest.

6.4. Descripción de los resultados

A continuación se describen los resultados de cada uno de los experimentos realizados siguiendo lo planificado en objetivos. Tabla 4.

	Registro			Intervención		
	Tiempo de registro	Registro	Modelo	Tiempo	Intensidad	Comentarios
Experimento 1a	T0, T1, T2, T3	H	cTBS	5, 20 y 40 s	STh	
Experimento 1b	T0, T1, T2, T3	H	cTBS	5, 20 y 40 s	STh	M constante*
Experimento 2	T0, T1, T2, T3	H	cTBS	5 min	STh	M constante
Experimento 3	T0, T1, T2, T3	H, inhibición, dolor	cTBS, 15Hz	40 s	110 % Hth STh (solo TBS)	M constante

Tabla 4. Esquema de los experimentos realizados. T0 (previo a la intervención), T1(inmediatamente posterior a la intervención), T2 (pasados 15 minutos de la intervención), T3 (pasados 30 minutos de la intervención); cTBS (estimulación tipo *theta burst*) 15 Hz (estimulación con la misma cantidad de corriente eléctrica, pero sin el patrón Theta), 110 % Hth (intensidad igual al 110 % de la intensidad necesaria para reclutar la onda H).

* La onda M se ha mantenido constante exclusivamente de forma *off-line*.

Experimento 1

Este primer experimento se diseña para dar respuesta al objetivo principal (Conocer si la aplicación de estímulos eléctricos con un patrón cTBS aplicado sobre el nervio tibial posterior modula la neurona motora espinal modificando la onda H).

Así como de los dos de los objetivos secundarios

- Conocer el perfil temporal, es decir cómo varia la modulación a lo largo del tiempo.

- Conocer la influencia de la duración del estímulo.

En esta serie de experimentos se estudia la excitabilidad de la médula espinal a través de la ratio $H/M_{\text{máx}}$ tras diferentes intervenciones con un patrón de estimulación cTBS en las que lo que varía es el tiempo que dura la estimulación (5, 20 o 40 segundos).

Experimento 1A

En la figura 22 se muestra la variación de la onda M y onda H (normalizadas $M/M_{\text{máx}}$ y $H/M_{\text{máx}}$) a lo largo del tiempo tras la estimulación a diferentes tiempos de duración. Como puede observarse, la onda M a lo largo del tiempo ha ido aumentando; este fenómeno podría estar distorsionando una modulación de la onda H (figura 22a). En cambio, la onda H, representada a través de la ratio $H/M_{\text{máx}}$, no sufre una variación significativa a lo largo del tiempo.

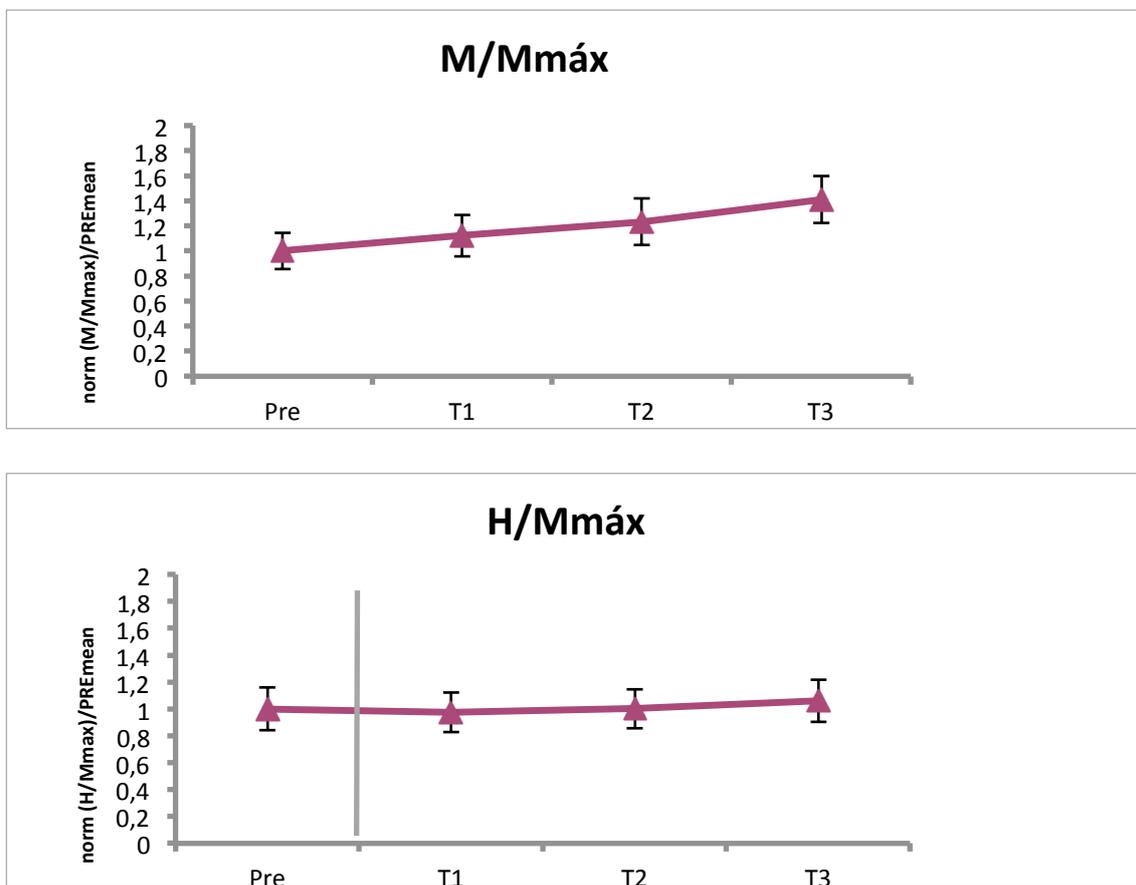


Figura 21. Variación sufrida por las ondas M y H durante el experimento 1A ante las diferentes duraciones de intervención (5, 20 y 40 segundos). Figura 22a. La onda M se ha normalizado con onda $M_{\text{máx}}$ (ratio $M/M_{\text{máx}}$). En esta figura puede observarse como el valor de la ratio $M/M_{\text{máx}}$ ha aumentado a lo largo del tiempo. Figura 22b. Muestra la variación de la ratio $H/M_{\text{máx}}$ a lo largo del tiempo; obsérvese que esta se mantiene prácticamente constante.

Para comparar los efectos sobre la ratio $H/M_{\text{máx}}$ entre las diferentes DURACION DE LA INTERVENCIÓN se utiliza una ANOVA de medidas repetidas sobre los valores normalizados al estado basal con los factores TIEMPO (T1/T0 y T2/T0), VARIABLE ($H/M_{\text{máx}}$ y $M/M_{\text{máx}}$) y DURACIÓN DE LA INTERVENCIÓN (5, 20 y 40 segundos).

En el experimento 1A la ANOVA de medidas repetidas demuestra significatividad en el factor TIEMPO $F_{(3, 33)} = 23,585$, $P < 0,0001$ y la interacción TIEMPO x VARIABLE $F_{(3, 33)} = 10,685$, $P < 0,0001$. A partir de estos datos se ha realizado una *FOLLOW UP ANOVA* (ANOVA DE SEGUIMIENTO) separando las variables (M/Mmáx y H/Mmáx).

Analizando separadamente la M/Máx, la ANOVA de medidas repetidas demuestra significatividad en el factor TIEMPO $F_{(3, 33)} = 21,798$, $P < 0,0001$. El análisis *post hoc* confirma que la M/Mmáx era mayor respecto a al estado basal (T0) en todos los tiempo analizados ($P < 0,01$).

Analizando separadamente la H/Mmáx, la ANOVA de medidas repetidas no muestra cambios significativos debidos a la estimulación.

Como se ha desarrollado con anterioridad, es necesario mantener una M constante para poder asegurar que el número de fibras reclutadas está siendo estable y que por tanto cualquier variación obtenida en la onda H se debe a una modulación de la actividad espinal y no a que se esté reclutando un número diferente de fibras nerviosas. El hecho de que la onda M esté variando de forma significativa nos obliga realizar el experimento 1B (ver sección 5.5.2 para más detalle).

Experimento 1B

Este inesperado aumento de la onda M a lo largo del experimento 1A obliga a un reanálisis de los resultados.

Para abordar esta situación, se opta por utilizar sólo los datos de aquellos registros en los que la onda M permanece en una amplitud igual a la amplitud inicial (solo se admite una variación del 20 % de la amplitud de la onda M). De este modo, estamos asegurando que el número de fibras nerviosas reclutadas es constante.

Este reanálisis, muestra que en los casos de 5, 20 y 40 segundos la variación de la excitabilidad espinal es menor incluso de lo que el experimento 1A mostraba.

En el experimento 1B la ANOVA de medidas repetidas no encuentra ningún cambio en las variables H y M a consecuencia de la intervención (la interacción de DURACION DE LA INTERVENCIÓN (5,20 y 40 segundos), VARIABLE (M/Mmáx, H/Mmáx) y TIEMPO (T0, T1, T2 y T3) fue de $F_{(6, 30)} = 0,687$, $P = 0,661$.

Esto demuestra que la variación de la variable H/Mmáx en el experimento 1A dependía del incremento de la onda M (del número de fibras nerviosas estimuladas) y no de una modulación de la actividad eferente de la médula espinal.

Experimento 2

Este segundo experimento se diseñó para dar respuesta al objetivo principal (Conocer si la aplicación de estímulos eléctricos con un patrón cTBS aplicado sobre el nervio tibial posterior modula la neurona motora espinal modificando la onda H).

Así como de los dos de los objetivos secundarios

- Conocer el perfil temporal, es decir cómo varia la modulación a lo largo del tiempo.
- Conocer la influencia de la duración del estímulo.

Ante la falta de resultados significativos, del experimento 1, se decide observar si el aumento del tiempo de estimulación puede tener un mayor impacto.

Para ello se genera un experimento en el que se plantea estimulación durante 5 minutos (300 segundos), aumentado así considerablemente el factor tiempo.

Los datos en este caso muestran una mayor variación de la ratio H/Mmáx. Sin embargo, esta variación sigue sin ser significativa.

En el experimento 2 la ANOVA de medidas repetidas no confirma ningún cambio en las variables M/Mmáx, H/Mmáx a consecuencia de la intervención. La interacción VARIABLE (M/Mmáx, H/Mmáx) y TIEMPO (T0, T1, T2 y T3) fue de $F_{(3, 21)} = 0,602$ $P = 0,621$).

Experimento 3

Este tercer experimento se diseñó para dar respuesta al objetivo principal (Conocer si la aplicación de estímulos eléctricos con un patrón cTBS aplicado sobre el nervio tibial posterior modula la neurona motora espinal modificando la onda H).

Así como de los dos de los objetivos secundarios

- Conocer el perfil temporal, es decir cómo varia la modulación a lo largo del tiempo.
- Conocer la influencia de la intensidad del estímulo.

Este protocolo muestra la variación de la excitabilidad de la médula espinal a través de la ratio H/Mmáx tras las diferentes intervenciones. Estimulación cTBS a intensidad baja (umbral sensitivo) durante 40 segundos, estimulación cTBS a intensidad elevada

(110 % UOH) y una estimulación control sin el patrón cTBS (15 Hz) a intensidad elevada (110 % UOH), que se muestra en la tabla 4.

	cTBS_{110UOH}	cTBS_{US}	15Hz_{110UOH}
N	10	10	10
	Intervención		
Umbral sensitivo (mA)		1,2 ± 1,1	
Umbral onda H (mA)	10,6 ± 4,4		12,8 ± 4,2
Intensidad del estímulo	110 % UOH	US	110 % UOH
	Registros de la onda H		
Onda H (mV)	4,2 ± 2,5	5,2 ± 1,9	3,9 ± 1,7
Onda M (mV)	2,1 ± 1,1	2,7 ± 2,1	2,9 ± 2,5
Intensidad del estímulo (mA)	15,8 ± 6,4	16,0 ± 5,7	19,0 ± 6,5
	Registros de la onda Mmáx		
Mmáx (mV)	20,4 ± 5,4	18,7 ± 7,1	16,3 ± 6,3
Intensidad del estímulo (mA)	28,2 ± 5,6	27,0 ± 3,9	27,2 ± 4,9

Tabla 5. Valores basales de los tres grupos experimentales. Los valores están expresados en media y desviación estándar

La ANOVA de medidas repetidas sobre valores normalizados al estado basal muestra una reducción significativa de la ratio H/Mmáx en el tiempo (ANOVA: TIEMPO x PROTOCOLO, $F_{(2,31)} = 3,347$; $P = 0,048$) solo en el caso de la estimulación cTBS 110 % UOH en el momento posterior a la intervención (T1) (*post hoc* t. test, $P = 0,047$).

La figura muestra la variación de la onda H en T0 y en T1 tras la intervención cTBS 110 % UOH, en un sujeto representativo.

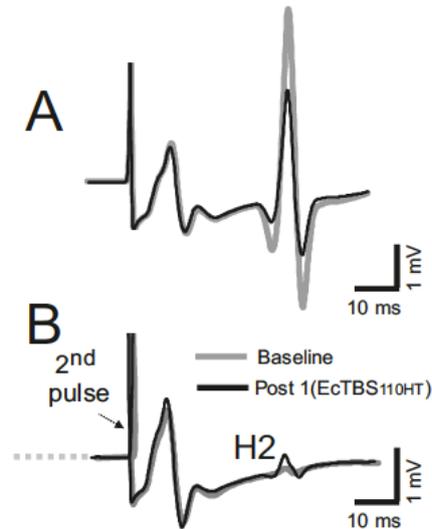


Figura 22. Figura 22a. Reflejo H en un sujeto representativo antes y después de la intervención cTBS 110 % UOH. Figura 22b. Estudio de pulsos pareados (H2/H1) en un sujeto representativo antes y después de la intervención cTBS 110 % UOH.

En este experimento también se evaluó la inhibición a través de pulsos pareados. El análisis de los datos no muestra efectos significativos tras la intervención en la ratio H2/H1 (TIEMPO: $F_{(1,23)} = 1,843$; $P = 0,188$; TIEMPO x PROTOCOLO: $F_{(2,23)} = 0,046$; $P = 0,955$).

Ninguno de los participantes refirió efectos secundarios, excepto dolor. Todos los sujetos que participaron en los experimentos a intensidades 110 % UOH (tanto a 15 Hz como con protocolo cTBS) mostraron una intensidad de dolor similar (cTBS 110 HT = $5,9 \pm 1,7$ y 15 Hz 110 HT = $7 \pm 1,2$; $P = 0,1029$).

En las siguientes figuras se muestran de forma gráfica los resultados más relevantes del experimento 3.

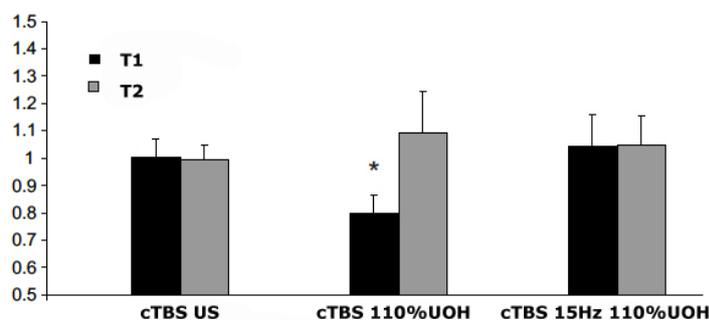


Figura 23: Variación en el tiempo de la ratio H/Mmáx normalizada al estado basal (T0). Los valores están expresados en media y barras de errores; son errores estándar de la media. Interacción entre TIEMPO x PROTOCOLO mostró una reducción significativa de la ratio H/Mmáx en el tiempo dependiendo del protocolo utilizado ($F_{(2,31)} = 3,347$; $P = 0,048$). El análisis *post hoc* mostró que la reducción era significativa en el tiempo inmediatamente posterior a la estimulación cTBS 110 % UOH (* $P < 0,05$).

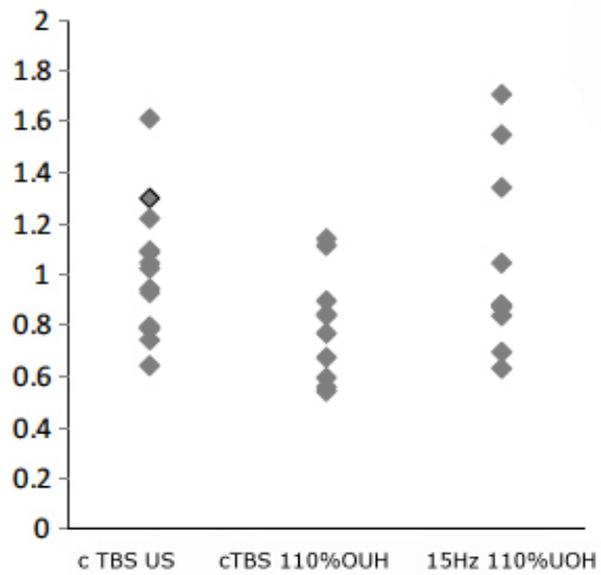


Figura 24: Efectos del cTBS 110 UOH sobre la ratio H/Mmáx ratio en un sujeto individual (*individual subjects*) (T1/T0).

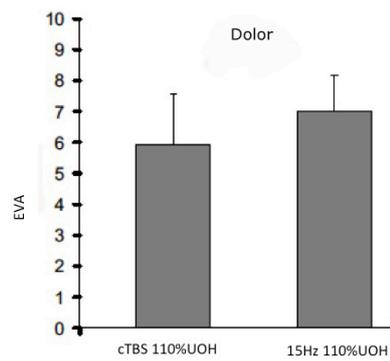


Figura 25. Puntuación de la EVA en los experimentos realizados a intensidad alta (110 % UOH). Valores expresados como medias y las barras de error representan desviación estándar

7- Discusión

Los experimentos 1 y 2 nos han permitido diseñar el experimento 3. En el experimento 1 se ha confirmado la necesidad de mantener la M constante y el experimento 2 ha permitido corroborar que la estimulación a intensidad baja (US) no es suficiente para producir cambios en la excitabilidad de la neurona motora espinal.

Con el experimento 3 se ha mostrado que tras la aplicación de 40 segundos cTBS (600 pulsos) a una intensidad del 110 % UOH se induce una reducción de la ratio H/M_{máx} a corto plazo, mientras que la estimulación a US o sin un patrón (15Hz) no produce dicha modulación.

Ninguna de estas tres estimulaciones produce cambios significativos en la depresión por pulsos pareados.

Nuestra primera consideración es que solo estímulos con un patrón cTBS y con una intensidad del 110 % UOH son capaces de afectar la excitabilidad del reflejo monosináptico espinal, ya que ni una estimulación uniforme con el mismo número de pulsos pero distribuidos de forma uniforme (15Hz) ni una estimulación con intensidad menor (US) fueron capaces de mostrar dichos cambios.

A lo largo de los experimentos se mantuvo la onda M constante para asegurar que la estimulación del nervio periférico era de la misma eficacia durante todo el experimento. Esto aseguró que los cambios en la amplitud de la onda H pudiesen ser atribuidos a cambios plásticos inducidos por la intervención y sobre el reflejo H y no a variaciones en el número de fibras reclutadas (onda M).

Los resultados obtenidos en el experimento 3 sugieren que la forma de estimulación (ritmo cTBS vs 15Hz) es relevante para la modulación de la actividad espinal. Estos resultados apuntan a que la estimulación cTBS surte efecto mientras que la estimulación 15 Hz no lo hace. Estos resultados coinciden con los de Pérez M. y colaboradores (63), quienes tras estimular de forma periférica el nervio ciático poplíteo externo consiguieron cambios, por inhibición, del reflejo H. Estos cambios solo se producían cuando la estimulación era en forma de trenes de impulso, mientras que cuando aplicaban estímulos de forma continuada no se apreciaban cambios incluso con tiempos de estimulación prolongada. Cabe destacar algunas diferencias entre los resultados obtenidos por Pérez M. y colaboradores y los resultados obtenidos en este estudio. En primer lugar, que en el estudio de Pérez M. se analiza otro tipo de plasticidad espinal (inhibición recíproca), lo que sugiere que la estimulación en patrones específicos es más efectiva a la hora de inducir cambios plásticos en diferentes circuitos y no solo en uno de ellos como el reflejo H.

Recientemente Yeh y colaboradores (56) aplicando estimulación cTBS en el nervio mediano conseguían una facilitación de la onda H, con lo cual la ratio H/M se veía aumentada. Esto ocurría cuando el estímulo era de una intensidad igual al 110 % del UOH mientras que obtenían un efecto inhibitorio con una disminución de la ratio H/M cuando la intensidad era del 90 % del UOH. Con esos resultados concluyeron que la estimulación eléctrica con patrón cTBS modula el reflejo H a través de algún mecanismo de plasticidad sináptica en la médula espinal y que dicho mecanismo depende de la intensidad del estímulo.

También sugieren que la intensidad del estímulo es un factor clave para facilitar o inhibir el reflejo H apoyando la existencia de fenómenos PLP-like.

Además, la duración de esta modulación era coherente con la duración del estímulo. Si se aplicaba una estimulación de 30 segundos, los efectos se mantenían durante 40 minutos mientras que llegaban a los 45 minutos cuando se aplicaba una estimulación de 80 segundos.

Estos resultados tienen algunos aspectos en común con los expuestos en este trabajo. La principal coincidencia es el hecho de que solo ante intensidades de estimulación elevada y con estimulación en patrones cTBS se consiguen efectos significativos.

Sin embargo, los resultados son divergentes en cuanto a la dirección de la modulación. Mientras el grupo de Yeh obtenía una facilitación de la onda H a intensidades del 110 % UOH en nuestro caso, a esta intensidad se producía una inhibición de la ratio H/Mmáx.

Estas discrepancias, podrían deberse a las diferencias propias entre el miembro superior (Yeh utilizó el nervio mediano) y el inferior (en nuestro caso se utilizó el nervio tibial posterior). Parece lógico pensar que el miembro inferior está dedicado principalmente a actividades como la bipedestación y la marcha, predominantemente antigravitatorias, simétricas y groseras y, por tanto, con un control diferente al de los miembros superiores, cuyas funciones requieren de componentes de movilidad mayores y más precisos como son el alcance, el agarre o la manipulación fina.

Esta discrepancia en la dirección de los resultados podrían deberse a que existen diferencias entre las proyecciones córticoespinales que alcanzan la médula espinal cervical (relacionadas con el miembro superior) y la médula espinal lumbosacra (relacionada con los miembros inferiores) (64, 65).

Otra posibilidad que podrían justificar dichas diferencias estaría en la propia circuitería espinal (66) y por tanto sería una cuestión cuantitativa y no cualitativa. Aunque la razón exacta no es conocida parece que la intensidad para inhibir la neurona motora espinal cervical es menor que la necesaria para inhibir la neurona motora espinal lumbar y que, por tanto, el reflejo H en los miembros inferiores tienen una menor

sensibilidad al cambio. Lamentablemente no realizamos ningún experimento utilizando una intensidad 90 % UOH (como sí hicieron Yeh y colaboradores), lo que habría permitido comparar los resultados a esta intensidad entre los miembros superiores e inferiores; sin embargo, sí que realizamos experimentos a intensidades menores (US) y la falta de resultados en este caso permite apoyar la hipótesis de que son necesarias intensidades de 90 y 110 % del UOH.

Por otra parte, el dolor puede influir en las eferencias motoras tanto por la influencia sobre las fibras aferentes la, como sobre las neuronas motoras espinales (57, 67, 68). En nuestros experimentos, la estimulación eléctrica a intensidades por encima del UOH es dolorosa, por tanto, cabe pensar que el dolor podría haber modulado la onda H. Esta interpretación se ve apoyada por el hecho de que la estimulación cTBS a intensidad baja (US) no fue dolorosa y no produjo cambios en la ratio H/Mmáx; sin embargo, esta misma estimulación cTBS a intensidad más elevada (110 % UOH) sí produjo cambios en la ratio H/Mmáx.

Sin embargo, la estimulación a intensidad elevada sin patrón específico (15 Hz 110 % UOH) produce un dolor similar al inducido por la intervención cTBS 110 % UOH, pero no provoca cambios en la excitabilidad de la neurona motora espinal (ratio H/Mmáx). Puede decirse por tanto que, en nuestros experimentos, los cambios plásticos de la excitabilidad de la neurona motora espinal son específicos del patrón cTBS y no provocados por el dolor.

Ninguna de las intervenciones aplicadas en este estudio tuvo influencia significativa sobre la depresión por pulsos pareados en el reflejo H. Recordemos que esta depresión por pulsos pareados hace referencia a la depresión que sufre el reflejo H cuando es reclutado dos veces consecutivas (con una separación temporal de 50 o 100 ms). Este fenómeno está asociado a los cambios producidos en la «fibra Ia» debidos a la reducción de la cantidad de neurotransmisor que esta fibra libera para excitar la neurona motora espinal (69,70). Por otro lado, el tamaño del reflejo H depende de la activación sináptica de las neuronas motoras espinales debido a la excitación de las fibras «Ia» (44). Por tanto, si se tiene en cuenta que la intervención cTBS 100 % UOH tiene una influencia sobre el reflejo H (ratio H/Mmáx), pero no sobre la depresión por pulsos pareados (ratio H2/H1), quiere decir que no está influyendo ni sobre la «fibra Ia» presináptica ni sobre la propia sinapsis, y puede considerarse que la estimulación cTBS 100 % UOH tiene un efecto sobre la excitabilidad de la propia neurona motora. Además, de nuevo, que la variación de la excitabilidad de esta neurona motora requiere de la activación de un patrón específico tipo cTBS.

8- Limitaciones

Este trabajo muestra algunas limitaciones que deben tenerse en cuenta a la hora de extrapolar estas conclusiones.

En primer lugar, hay que tener en cuenta que los resultados se obtuvieron a partir del nervio tibial posterior y, aunque otros autores han obtenido resultados similares en el nervio mediano (56), cabe pensar si estos datos son realmente extrapolables a cualquier otro nervio.

Otra limitación en este trabajo es que ha sido realizado en sujetos sanos. Sería interesante en este sentido poder descartar la influencia de vías descendentes desde centros superiores a la medula espinal. Realizar estudios similares en pacientes con lesión medular completa o utilizar EMT para extrapolar los datos podrían ser opciones a tener en cuenta para discernir dicha posibilidad.

Hubiese sido de utilidad realizar un mayor número de experimentos con estimulación cTBS aplicada a una intensidad mayor o con diferentes duraciones para estudiar más detalles acerca de la influencia de estas variables. Sin embargo, nuestro protocolo indujo un dolor moderado/intenso y se pretendía no exponer a más sesiones de este tipo a los sujetos estudiados.

En este trabajo tan sólo se han estudiado el reflejo H y la depresión por pulsos pareados, sin evaluar la influencia sobre otros circuitos espinales tanto inhibitorios como excitatorios; por lo que sería interesante que futuros estudios indagaran en el comportamiento de otros circuitos espinales.

9- Conclusiones

Derivadas de los objetivos planteados y tras este trabajo experimental pueden extraerse algunas conclusiones, a saber:

- *La estimulación cTBS aplicada sobre el nervio tibial posterior modula la actividad eferente produciendo una disminución de la excitabilidad de la neurona motora espinal.*
- *Sólo con la cTBS se produce este efecto modulador puesto que la estimulación eléctrica constante (15 Hz) no se ha mostrado eficaz.*
- *El efecto modulador de la cTBS tiene una duración limitada, y desaparece pocos minutos después de su aplicación.*
- *La intensidad en la estimulación ha mostrado ser el parámetro determinante. A intensidades de estimulación alta se produce la modulación de la excitabilidad de la neurona motora espinal.*
- *El tiempo de estimulación no parece ser tan influyente, al menos en los parámetros utilizados en estos experimentos; la estimulación a 5, 20, 40 y 300 segundos produce efectos similares. Hay que tener en cuenta que estos diferentes tiempos de aplicación solo se han realizado con intensidad a umbral sensitivo.*

Otras consideraciones y futuras líneas.

- *Los mecanismos inhibitorios de la médula espinal no parecen ser los responsables de esta modulación. En este trabajo la modulación se ha visto influida por mecanismos relacionados con el dolor.*
- *Esta modulación sobre la médula espinal podría llegar a ser útil en diferentes cuadros clínicos en los que diferentes grupos musculares cursan con un aumento de su actividad basal. Un caso claro de futuras líneas de investigación podría ser el estudio de pacientes que sufren espasticidad por lesiones neurológicas.*

10- Bibliografía

1. Fischer B SVDG, Dieckmann U, Taborsky B. The Evolution of Age-Dependent Plasticity. *The American Naturalist*. 2014; 183(1): 108-25.
2. Flück M. Functional, structural and molecular plasticity of mammalian skeletal muscle in response to exercise stimuli. *The Journal of Experimental Biology*. 2006; 209: 2239-48.
3. Conzález Álvarez J. Breve historia del cerebro. Barcelona: Crítica; 2010.
4. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA, Hudspeth AJ. *Principles of Neural Science*. Nueva York: McGraw-Hill Education; 2012.
5. Scoville WB, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesion. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 1957; 20(11): 11-21.
6. Barrionuevo G, Brown TH. Associative long-term potentiation in hippocampal slices. *Neurobiology*. 1983; 80(23): 7347-51.
7. Beggs MJ, Brown TH, Byrne JH, Crow T, LeDoux JE, LeBar K, Thompson RF. Learning and Memory: Basic Mechanisms. En Zigmond JM, Bloom FE, Roberts JL, Landis SC, Squire LR (eds.): *Fundamental Neuroscience*. California: Academic Press; 1999.
8. Hawkins RD, Abrams TW, Carew TJ, Kandel ER. A cellular mechanism of classical conditioning in *Aplysia*: activity-dependent amplification of presynaptic facilitation. *Science*. 1983; 219(4583): 400-5.
9. Martin KC, Casadio A, Zhu H, Yaping E, Rose JC, Chen M, Bailey CH, Kandel ER. Synapse-specific, long-term facilitation of *Aplysia* sensory to motor synapses: A function for local protein synthesis in memory storage. *Cell*. 1997; 91(7): 927-938.
10. Castellucci V, Kupfermann I, Pinsker H, Kandel ER. Neuronal mechanisms of habituation and dishabituation of the gillwithdrawal reflex in *Aplysia*. *Science*. 1970; 167(3926): 1745-8.
11. Cooke SF, Biss TV. Plasticity in the human central nervous system. *Brain*. 2006; 129(Pt 7): 1659-73.
12. Bliss TV, Lømo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of anaesthetized rabbit following a stimulation of the perforant path. *J Physiol*. 1973; 232(2): 331-56.
13. Ramón y Cajal S. *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados*. Madrid; 1899.
14. Hebb DO. *The Organization of Behavior*. Nueva York: Wiley; 1949.
15. Bliss TV, Lømo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*. 1973; 232(2): 331-56.
16. Bliss TV, Collingridge GL. Asynaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*. 1993; 361(6407):31-9.

17. Lynch MA. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev.* 2004; 84(1): 87-136.
18. Penfield W. Some observations on the cerebral cortex of man. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1947; 134(876): 329-47.
19. Patton HD. Single -and multiple- unit analysis of cortical stage of pyramidal tract activation. *Journal of Neurophysiology.* 1954.
20. Merton PA, Morton HB. Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject. *Nature.* 1980; 285(5762): 227.
21. Barker AT, Freeston IL, Jalinous R, Merton PA, Morton HB. Magnetic stimulation of the human brain. *J. Physiol.* 1985; 369: 3P.
22. Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet.* 1985; 1(8437): 1106-7.
23. Lozano A. *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 116: Brain Stimulation (2-763). s. l.: Elsevier; 2013.
24. Deng ZD, Lisanby SH, Peterchev AV. Electric field depth-focality tradeoff in transcranial magnetic stimulation: Simulation comparison of 50 coil designs. *Brain Stimul.* 2013; 6(1): 1-13.
25. Datta A, Bansal V, Díaz J, Patel J, Reato D, Bikson M. Gyri-precise head model of transcranial direct current stimulation: Improved spatial focality using a ring electrode versus conventional rectangular pad. *Brain Stimulation.* 2009; 2(4): 201-7.
26. Schaeffner LF, Welchman AE. Mapping the visual brain areas susceptible to phosphene induction through brain stimulation. *Exp Brain Res.* 2016; 235(1): 205-217.
27. Rossini PM, Barker AT, Berardelli A, Caramia MD, Caruso G, Cracco RQ, *et al.* Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology.* 1994; 91:79-92.
28. Groppa S, Oliviero A, Eisen A, Quartarone A, Cohen LG, Mall V, Kaelin-Lang A, Mima T, Rossi S, Thiebroom GW, Rossini PM, Ziemann U, Valls-Solé J, Siebner HR. A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: Report of an IFCN committee. *Clinical Neurophysiology.* 2012; 123: 858-82.
29. Di Lazzaro V, Olivero A, Profice P, Insola A, Mazzone P, Tonali P, Rothwell JC. Effects of voluntary contraction on descending volleys evoked by transcranial stimulation in conscious humans. *Experimental Brain Research.* 1999; 124(4): 525-528.
30. Di Lazzaro V, Olivero A, Profice P, Saturnoa E, Pilatoa F, Insola A, Mazzone P, Tonalia P, Rothwell JC. Comparison of descending volleys evoked by transcranial magnetic and electric stimulation in conscious humans. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1998; 109 (5): 397-401.
31. Di Lazzaro V, Olivero A, Pilatoa F, Saturnoa E, Dileonea M, Mazzone P, Insola A, Tonalia PA, Rothwell JC. The Physiological basis of transcranial motor cortex stimulation in conscious humans. *Clinical Neurophysiology.* 2004; 115(2): 255-66.

32. Rossi S, Hallett M, Rossini PM, Pascual-Leone A. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clinical Neurophysiology*. 2009; 120(12): 2008-39.
33. Grefkes C, Nowak DA, Wang LE, Dafotakis M, Eickhoff SB, Fink GR. Modulating cortical connectivity in stroke patients by rTMS assessed with fMRI and dynamic causal modeling. *NeuroImage* 2010; 50(1): 233-42.
34. Kim YH, You SH, Ko MH, Park JW, Lee KH, Jang SH, Yoo WK, Hallett M. Repetitive transcranial magnetic stimulation-induced corticomotor excitability and associated motor skill acquisition in chronic stroke. *Stroke*. 2005; 37(6): 1471-6.
35. Ridding MC, Ziemann U. Determinants of the induction of cortical plasticity by non-invasive brain stimulation in healthy subjects. *J Physiol*. 2010; 588(13): 2291-304.
36. Huang YZ, Edwards MJ, Rounis E, Bhatia KP, Rothwell J. Theta Burst Stimulation of the Human Motor Cortex. *Neuron*. 2005; 45(2):201-6.
37. Larson J, Lynch G. Induction of Synaptic Potentiation in Hippocampus by Patterned Stimulation Involves Two Events. *Science*. 1986; 232(4753): 985-8.
38. Larson J, Lynch G. Theta pattern stimulation and the induction of LTP: the sequence in which synapses are stimulated determines the degree to which they potentiate. *Brain Res*. 1989; 489(1): 49-58.
39. Hölscher C, Anwyl R, Rowan MJ. Stimulation on the Positive Phase of Hippocampal Theta Rhythm Induces Long-Term Potentiation That Can Be Depotentiated by Stimulation on the Negative Phase in Area CA1 In Vivo. *The Journal of Neuroscience*. 1997; 17(16): 6470-67.
40. Stäubli U, Xu FB. Effects of 5-HT₁ Receptor Antagonism on Hippocampal Theta Rhythm, Memory, and LTP Induction in the Freely Moving Rat. *The Journal of Neuroscience*. 1995; 15(3): 2445-52.
41. Huang YZ, Chen RS, Rothwell JC, Wen HY. The after-effect of human theta burst stimulation is NMDA receptor dependent. *Clinical Neurophysiology* 2007; 118(5): 1028-32.
42. Di Lazzaro V, Pilato F, Saturno E, Oliviero A *et al*. Theta-burst repetitive transcranial magnetic stimulation suppresses excitatory circuits in the human motor cortex. *Journal of Physiology*. 2005; 565(3): 945-50.
43. Sherrington CS. *The Integrative Action of the Nervous System*. New Haven: Yale University Press; 1916.
44. Knikou M. The H-reflex as a probe: Pathways and pitfalls. *Journal of Neuroscience Methods*. 2008; 171: 1-12.
45. Sommerfeld DK, Gripenstedt U, Welmer AK. Spasticity after stroke: an overview of prevalence, test instruments, and treatments. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*. 2012; 91(9): 814-20.
46. Rizzo MA, Hadjimichael OC, Preiningerova J, Vollmer TL. Prevalence and treatment of spasticity reported by multiple sclerosis patients. *Mult Scler*. 2004; 10(5): 589-95.

47. Westerkam D, Saunders LL, Krause JS. Association of Spasticity and Life Satisfaction after Spinal Cord Injury. *Spinal Cord*. 2011; 49(9): 990-4.
48. Milinis K, Young CA, Trajectories of Outcome in Neurological Conditions (TONIC) Study. Systematic review of the influence of spasticity on quality of life in adults with chronic neurological conditions. *Disabil Rehabil*. 2015; diciembre 29: 1-11.
49. Voerman GE, Gregoric M, Hermens HJ. Neurophysiological methods for the assessment of spasticity: The Hoffmann reflex, the tendon reflex, and the stretch reflex. *Disability and Rehabilitation*. 2005; 27(1-2): 33-68.
50. Ginanneschi F, Dominici F, Milani P, Biasella A, Rossi A, Mazzocchio R. Changes in the recruitment curve of the soleus H-reflex associated with chronic low back pain. *Clinical Neurophysiology* 2007; 118(1):111-8.
51. Cerrato M, Bonell C, Tabernig C. Factores que afectan el reflejo de Hoffmann en su uso como herramienta de exploración neurofisiológica. *Rev Neurol*. 2005; 41(6): 354-60.
52. Kimura J. *Electrodiagnosis in disease of nerve and muscle*. Oxford: Oxford University Press; 2001.
53. Fisher MA. *Electrophysiology of radiculopathies*. *Clinical Neurophysiology*. 2002; 113(3): 317-35.
54. Tucker KJ, Tuncer M, Türker KS. A review of the H-reflex and M-wave in the human triceps surae. *Hum Mov Sci*. 2005; 24(5-6): 667-88.
55. Rosner B. *Fundamentals of Biostatistics: 4th ed*. Duxbury Press; 1995.
56. Yeh KL, Fong PY, Huang YZ. Intensity Sensitive Modulation Effect of Theta Burst Form of Median Nerve Stimulation on the Monosynaptic Spinal Reflex. *Neural Plasticity*. 2015 (ID 704849).
57. Le Pera D, Graven-Nielsen T, Valeriani M, Oliviero A, Di Lazzaro V, Tonali PA, Arendt-Nielsen L. Inhibition of motor system excitability at cortical and spinal level by tonic muscle pain. *Clin Neurophysiol*. 2001; 112(9): 1633-41.
58. Bijur PE SW, Gallagher JE. Reliability of the Visual Analog Scale for Measurement of Acute Pain. *Academic Emergency Medicine*. 2001;8(12):1153-7.
59. Price D. McGrath P.A RA. The validation of visual analogue scales as ratio scale measures for chronic and experimental pain. *Pain*. 1983;17(1):45-56.
60. Dimitrova NA, Dimitrov GV. Interpretation of EMG changes with fatigue: facts, pitfalls, and fallacies. *Journal of Electromyography and Kinesiology*. 2003; 13(1): 13-36.
61. Crone C, Hultborn H, Mazières L, Morin C, Nielsen J, Pierrot-Deseilligny E. Sensitivity of monosynaptic test reflexes to facilitation and inhibition as a function of the test reflex size: a study in man and the cat. *Experimental Brain Research*. 1990; 81(1): 35-45.
62. Boorman GI, Hoffer JA, Kallesoe K, Viberg D, Mah C. A measure of peripheral nerve stimulation efficacy applicable to H-reflex studies. *Can J Neurol Sci*. 1996; 23(4): 254-70.

63. Pérez MA, Field-Fote EC, Floeter MK. Patterned Sensory Stimulation Induces Plasticity in Reciprocal Ia Inhibition in Humans. *The Journal of Neuroscience*. 2003; 23(6): 2014-8.
64. Brouwer B, Ashby P. Corticospinal projections to lower limb motoneurons in man. *Exp Brain Res*. 1992; 89(3): 649-54.
65. Dalpozzo F, Gérard P, De Pasqua V, Wang F, Maertens de Noordhout A. Single motor axon conduction velocities of human upper and lower limb motor units. A study with transcranial electrical stimulation. *Clin Neurophysiol*. 2002; 113(2): 284-91.
66. Hosoido T, Motoyama S, Goto M, Mori F, Tajima T, Hirata H, Wada N. Characteristics of H- and M-waves recorded from rat forelimbs. *Neuroscience Letters*. 2009; 450(3): 239-241.
67. Andrews JC, Stein RB, Roy FD. Post-activation depression in the human soleus muscle using peripheral nerve and transcutaneous spinal stimulation. *Neurosci Lett*. 2015; 589: 144-9.
68. Elliot LS, Kandel ER, Hawkins RD. Modulation of spontaneous transmitter release during depression and post-tetanic potentiation of Aplysia sensory-motor neuron synapse isolated in culture. *J Neurosci*. 1994; 14(5 Pt 2): 3280-92.
69. Hultborn H, Illert M, Nielsen J, Paul A, Ballegaard M, Wiese H. On the mechanism of the post-activation depression of the H-reflex in human subjects. *Exp Brain Res* 1996; 108(3): 450-62.
70. Lev-Tov A, Pinco M. In vitro studies of prolonged synaptic depression in the neonatal rat spinal cord. *J Physiol* 1992; 447: 149-69.

Anexos

Anexo 1. Hoja de consentimiento informado

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

En cumplimiento de la Ley General de Investigación y de la Ley General de Sanidad. Yo, D/Dña....., en pleno uso de mis facultades, libre y voluntariamente,

EXPONGO:

Que he sido debidamente INFORMADO/A por el D....., en entrevista personal realizada el día., de que se va a realizar un estudio neurofisiológico para valorar la excitabilidad espinal antes y después de una estimulación eléctrica del nervio tibial posterior.

Aproximadamente la prueba dura entre 45 min y 1 hora, después se puede continuar con la actividad normal.

He entendido que las técnicas utilizadas no tienen riesgos conocidos.

He entendido que las técnicas utilizadas no tienen riesgos conocidos durante el embarazo y la lactancia. No obstante no se permitirá la participación al estudio a mujeres embarazadas (o que puedan estar en esta condición) o en periodo de lactancia.

He recibido explicaciones sobre la naturaleza y propósitos del procedimiento, beneficios, riesgos, alternativas y medios con que cuenta el Hospital para su realización, habiendo tenido ocasión de aclarar las dudas que me han surgido y se me proporcionará una copia de este documento si lo solicito.

Mi participación es voluntaria y que no tendré beneficios personales participando en este estudio.

Toda la información que transmitiré o que se obtendrá del estudio será confidencial.

MANIFIESTO:

Que he entendido y estoy satisfecho de todas las explicaciones y aclaraciones recibidas sobre el proceso citado Y OTORGO MI CONSENTIMIENTO para que me sea realizado este estudio.

Este consentimiento puede ser revocado por mí en cualquier momento antes o durante la realización del procedimiento.

Y, para que así conste, firmo el presente documento

Toledo, a , de de

Firma del voluntario y Nº D.N.I.

Firma del experimentador informante

Anexo 2. Aprobación del comité de ética

COMPLEJO HOSPITALARIO DE TOLEDO
HOSPITAL VIRGEN DE LA SALUD
Avda. Barber, 30. 45004. Toledo. Teléfono 925 269200



C. E. I. C. SALIDA	
FECHA:	10-04-03
N.º	26

INFORME DEL COMITE ETICO DE INVESTIGACION CLINICA

Doña Enriqueta Muñoz Platón, Secretaria del Comité Ético de Investigación clínica del "Complejo Hospitalario de Toledo".

CERTIFICA:

Que este Comité ha evaluado el Proyecto de Investigación presentado a la Junta de Comunidades de Castilla la Mancha, titulado " EL ACOPLAMIENTO FUNCIONAL DE LAS MOTONEURONAS ESPINALES Y LOS MUSCULOS AGONISTAS Y ANTAGONISTAS EN EL ESTUDIO DE LA ESPASTICIDAD CAUSADA POR TRASTORNOS DE LA MEDULA ESPINAL ", investigador principal Dr. Antonio Oliviero, U. de Neurología funcional. H.N.P, y considera que:

Este Comité Ético de Investigación no encuentra impedimentos éticos para que dicho estudio sea realizado en el Hospital Nacional de Parapléjicos, por el Dr. Antonio Oliviero como investigador principal.

Toledo a 9 de Abril de 2003



Firmado: Enriqueta Muñoz Platón

Anexo 3. Colocación de electrodos, posición del sujeto y material del laboratorio.



Imagen con los electrodos para la estimulación del nervio tibial posterior.



Imagen en la que además se han pegado los electrodos de registro.



Imagen durante uno de los experimentos con el sujeto colocado en decúbito prono y se pueden observar tanto el electromiógrafo con el registro de la actividad.

Índice de tablas

Tabla 1. Principales características de las ondas D, I e I tardías.....29

Tabla 2. Esquema de los experimentos realizados.52

Tabla 3: Datos basales de los experimentos 1, 2 y 3 63

Tabla 4. Esquema de los experimentos realizados. 64

Tabla 5. Valores basales de los tres grupos experimentales.68

Índice de figuras

Figura 1. Colateral Comisural y colateral de la neurona Schaffer	15
Figura 2. Cambios producidos en el circuito CA1..	16
Figura 3. Representación de los experimentos de Galvani	20
Figura 4. Una corriente eléctrica fluye a través de la bobina o <i>coil</i>	22
Figura 5. Los diferentes tipos de <i>coil</i> para estimulación magnética transcraneal.	23
Figura 6. Recorrido de la señal desde la EMT hasta el registro EMG	24
Figura 7. Representación de estímulo único	24
Figura 8. Representación de un PEM, amplitud pico a pico y área.	25
Figura 9: Representación de registro de la señal descendente a nivel cervical	26
Figura 10. Representación circuito cortical	29
Figura 11. Esquema de los protocolos TBS	33
Figura 12. Efecto de los diferentes protocolos TBS sobre los PEM.	34
Figura 13. Arco reflejo.	36
Figura 14. Diversos receptores influirán sobre el músculo.	38
Figura 15. Esquema del montaje para reclutar el reflejo H.	39
Figura 16. Representación del registro de la onda H y la onda M.	39
Figura 17. Diagrama del reclutamiento de la onda I	41
Figura 18. Diagrama de la amplitud de la onda H.	48
Figura 19. Representación de la estimulación pareada.	49
Figura 20. Diagrama de flujo de las distintas fases de cada experimento	51
Figura 21. Variación sufrida por las ondas M y H durante el experimento 1A	65

Figura 22. Sujeto representativo. intervención cTBS 110 % UOH.	69
Figura 23: Variación de la ratio H/Mmáx normalizada al estado basal (T0)	69
Figura 24: Efectos del cTBS 110 UOH sobre la ratio H/Mmáx	70
Figura 25. Puntuación de la EVA	70