

UNIVERSIDADE DA CORUÑA

MÁSTER EN NEUROCIENCIA

Curso 2018-2019

Efectos de la estimulación con campos magnéticos estáticos transcraneales sobre la corteza prefrontal dorsolateral en la excitabilidad de la corteza motora.

Effects of static transcranial magnetic stimulation applied over the dorsolateral prefrontal cortex on motor cortex excitability.

Efectos da estimulación con campos magnéticos estáticos transcraneais sobre a corteza prefrontal dorsolateral na excitabilidade da corteza motora.

Aranza Vila Villar

ÍNDICE

1. Resumen.....	1
1. Abstract	2
2. Introducción	3
2.1 Técnicas para la evaluación de la excitabilidad cortical	3
2.1.1 Estimulación eléctrica transcraneal	3
2.1.2 Estimulación magnética transcraneal	4
2.2 Técnicas para la modificación de la excitabilidad cortical	10
2.2.1 Técnicas que inducen o aplican campos eléctricos en el cerebro.....	11
2.2.2 Técnicas que no inducen campos eléctricos en el cerebro: Estimulación con campos magnéticos estáticos.	13
2.3 Corteza prefrontal dorsolateral.....	14
2.3.1 Efectos de las TECNI sobre la CPFDL	15
3. Objetivos e hipótesis.....	18
4. Metodología	19
4.1 Participantes	19
4.2 Instrumentos y Procedimiento.....	19
4.3 Análisis de datos.....	22
5. Resultados	23
5.1 Efectos de los CME en la excitabilidad corticoespinal.....	23
5.2 Efectos de los CME en la excitabilidad intracortical.	24
6. Discusión.....	26
7. Conclusiones.....	29
8. Bibliografía	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Protocolo experimental	22
--	----

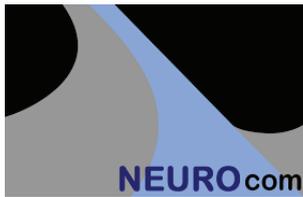
ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Colocación de los participantes con los electrodos de superficie y el casco diseñado para la ubicación del imán en la CPFDL.....	20
Figura 2. Registro electromiográfico de los PEM a través de la EMT por par de pulsos.....	21
Figura 3. Amplitud media en milivoltios de los PEM en los 3 músculos PRE-estimulación considerando las dos sesiones	24
Figura 4. Grado de inhibición (valores normalizados) en los 3 músculos considerando las dos sesiones	25
Figura 5. Grado de inhibición a lo largo de los momentos de evaluación considerando las dos sesiones en rango 0-1 (0=100% inhibición; 1=0% inhibición)	25

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS/ABREVIATURAS

CMAp	Potencial de acción muscular compuesto
CME	Campos magnéticos estáticos
CPFDL	Corteza prefrontal dorsolateral
cTBS	Estimulación theta-burst continua
EEG	Electroencefalograma
EEP	Estimulación eléctrica percutánea
EMT	Estimulación magnética transcraneal
EMTr	Estimulación magnética transcraneal repetitiva
EP	Enfermedad de Parkinson
ETCA	Estimulación transcraneal por corriente alterna
ETCD	Estimulación transcraneal por corriente directa

ETCP	Estimulación transcraneal por corriente pulsada
ETRA	Estimulación transcraneal con ruido aleatorio
ICF	Facilitación intracortical
IIE	Intervalo interestímulo
iTBS	Estimulación theta-burst intermitente
LICI	Inhibición intracortical de largo intervalo
M1	Área motora primaria
PDI	Primer dorsal interóseo
PEM	Potenciales motores evocados
SICI	Inhibición intracortical de corto intervalo
TBS	Estimulación theta-burst
TECNI	Técnicas de estimulación cerebral no invasiva



A Coruña, 12 de Julio de 2019

“EFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN CON CAMPOS MAGNÉTICOS ESTÁTICOS TRANSCRANEALES SOBRE LA CORTEZA PREFRONTAL DORSOLATERAL EN LA EXCITABILIDAD DE LA CORTEZA MOTORA”

Trabajo de Fin de Máster (TFM) realizado por Aranza Vila Villar, graduada en Fisioterapia, para optar al título de Máster en Neurociencia, bajo la tutoría del director Dr. Juan Casto Rivadulla Fernández y el cotutor Dr. Pablo Arias Rodríguez en el Grupo de Neurociencia y Control Motor (NEUROcom), del departamento de Ciencias Biomédicas, Medicina y Fisioterapia en la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de A Coruña (UDC).

Concluimos que la alumna ha realizado el TFM de manera satisfactoria y autorizamos su presentación para optar a dicho título. Para que conste firmamos la presente:

RIVADULLA
FERNANDEZ JUAN
CASTO - 52451861Q

Firmado digitalmente por RIVADULLA
FERNANDEZ JUAN CASTO - 52451861Q
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES,
serialNumber=52451861Q,
sn=RIVADULLA FERNANDEZ,
givenName=JUAN CASTO, cn=RIVADULLA
FERNANDEZ JUAN CASTO - 52451861Q
Fecha: 2019.07.14 10:01:45 +02'00'

Dr. Juan Casto Rivadulla Fernández

ARIAS RODRIGUEZ
PABLO - DNI
33300914L

Firmado digitalmente por ARIAS RODRIGUEZ PABLO - DNI
33300914L
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, o=UNIVERSIDAD
DE A CORUÑA, ou=CERTIFICADO ELECTRONICO DE
EMPLEADO PUBLICO, ou=EDUCACION FISICA E DEPORTIVA,
ou=18254, serialNumber=IDCES-33300914L, sn=ARIAS
RODRIGUEZ, givenName=PABLO, cn=ARIAS RODRIGUEZ
PABLO - DNI 33300914L
Fecha: 2019.07.13 17:34:53 +02'00'

Dr. Pablo Arias Rodríguez

1. RESUMEN

Las técnicas de estimulación cerebral no invasiva (TECNI) comprenden varias modalidades diferentes que permiten modificar la excitabilidad cortical a través del cráneo; ello se observa tanto en el área estimulada como en otras áreas funcionalmente conectadas con la misma. La estimulación con campos magnéticos estáticos (CME) es una de las TECNI de más reciente introducción, y ofrece la ventaja de su portabilidad, bajo coste y fácil administración. Se conoce su efecto sobre distintas áreas cerebrales, como la corteza motora, parietal o la occipital. Sin embargo, se desconoce si dicha técnica aplicada sobre la CPFDL es capaz de modificar la excitabilidad del área motora primaria (M1), algo que sí se ha mostrado con otras TECNI.

Debido a esto, se plantea la hipótesis de que la aplicación de los CME sobre la corteza prefrontal dorsolateral (CPFDL) producirá cambios de la excitabilidad cortical a nivel de M1. Por tanto, el objetivo del presente trabajo es conocer los efectos de los CME en la excitabilidad de M1 izquierda tras su aplicación en la CPFDL ipsilateral.

Para ello se seleccionaron 16 jóvenes diestros y sanos. Se realizaron diferentes mediciones en las cuales se incluyó la estimulación magnética transcraneal de par de pulsos en M1, para evaluar la excitabilidad intracortical (GABA-b dependiente) y la excitabilidad corticoespinal. La evaluación se realizó en dos sesiones distintas, una tras estimulación mediante CME reales y otra tras estimulación placebo, aleatorizadas en orden.

En el presente experimento no se observaron cambios significativos en la excitabilidad de M1 tras la aplicación de los CME sobre la CPFDL. Dadas las características de simplicidad y portabilidad de la estimulación con CME, comprender si la misma permite modular la excitabilidad de redes funcionales es de gran relevancia, tanto desde una perspectiva fundamental como potencialmente clínica. Por lo que se puede concluir que son necesarias investigaciones futuras que apoyen o rebatan los presentes resultados.

Palabras clave: Estimulación magnética transcraneal; Campos magnéticos estáticos; Área Motora Primaria; Corteza Prefrontal Dorsolateral; Excitabilidad Cortical.

1. ABSTRACT

Non-invasive brain stimulation techniques (TECNI) allow the modulation of cortical excitability through the scalp. This is observed both in the stimulated area and other areas functionally connected to it. The use of transcranial static magnetic stimulation (tSMS) is one of the most recently introduced TECNI. It is portable, low-cost and easily administered. Aftereffects of tSMS are reported on different brain areas, such M1, parietal or occipital cortex. However, it is unknown if tSMS application on the dorsolateral prefrontal cortex (CPF DL) modulates M1 excitability, an aftereffect previously shown with other TECNI.

In this work, we hypothesize that the application of tSMS on the CPF DL will change M1-cortical excitability. Therefore, the aim of this work is to know the effects of tSMS on the excitability of left M1 after its application on the ipsilateral CPF DL.

For this purpose, 16 healthy and right-handed young people were selected. We used paired-pulse transcranial magnetic stimulation on M1 to evaluate intracortical excitability (GABA-b dependent) and cortico-spinal excitability. The evaluation was carried out in two different sessions, real or sham stimulation sessions, randomized in order.

In the present experiment, no significant changes were observed in the excitability of M1 after the application of the tSMS on the CPF DL. Given the simplicity and portability tSMS stimulation understanding their mechanisms of actions is important at fundamental and clinical level, for this reason further investigation should explore aftereffects of this technique of different expression of cortical excitability the their behavioural correlates.

Keywords: Transcranial magnetic stimulation; Static magnetic fields; Primary Motor Area; Dorsolateral prefrontal cortex; Cortical excitability

2. INTRODUCCIÓN

La estimulación cerebral transcraneal comprende varias técnicas diferentes para estimular el cerebro humano a través del cráneo. Su objetivo principal es interactuar sobre las estructuras corticales sobre las que se encuentra, aumentando o disminuyendo su excitabilidad, o permitiendo la evaluación funcional de las mismas (Ziemann et al., 2008). Se han desarrollado tres áreas principales de aplicaciones en los últimos años:

- Estudio de la fisiología del cerebro, como por ejemplo, la integridad del tracto corticoespinal o conectividad efectiva entre áreas cerebrales (Di Lazzaro et al., 2006).
- Perturbar la función cerebral, por ejemplo, induciendo lesiones virtuales transitorias, o cambiando la excitabilidad y conectividad de una red estimulada, lo cual permite estudiar las funciones en las que dicha estructura se encuentra implicada.
- Tratar enfermedades cerebrales en las que las alteraciones en la excitabilidad cortical sea parte de su sustrato patológico, como la depresión, el dolor, los acúfenos, la apoplejía, la fibromialgia, el dolor crónico, la epilepsia, las cefaleas y migrañas, la esclerosis múltiple o la esclerosis lateral amiotrófica (Schulz, Gerloff, & Hummel, 2013).

2.1 Técnicas para la evaluación de la excitabilidad cortical

2.1.1 Estimulación eléctrica transcraneal

En términos generales, la estimulación eléctrica del cerebro se refiere a la generación de potenciales de acción neuronales a partir de la aplicación de una corriente eléctrica en el tejido cerebral. Se sabe que la estimulación eléctrica tiene un efecto principal sobre los axones o prolongaciones nerviosas, más que en el cuerpo de la neurona en sí mismo (Rossini et al., 1994). Los potenciales resultantes son experimentalmente medibles. Así, las respuestas motoras generadas por impulsos de corta duración y alta intensidad tienen umbrales menores para músculos en contracción activa que en aquellos en reposo (Devanne et al., 2009). En la corteza motora primaria (M1), la estimulación neural se produce preferentemente en la corteza subyacente al ánodo y provoca potenciales evocados motores (PEM) en el lado opuesto del cuerpo (Fertonani & Miniussi, 2017). Un solo pulso de estimulación anódica administrado en el cuero cabelludo provoca una corriente cerebral que despolariza la membrana celular e inicia un potencial de acción (Rossini et al., 2015). Producto de dicha estimulación, las volutas

descendientes, a través del tracto piramidal, pueden registrarse como una onda directa (onda D), que refleja la activación directa de los axones corticoespinales. A intensidades más altas, el estímulo recluta entradas sinápticas a las mismas neuronas corticoespinales, lo que hace que se descarguen a intervalos posteriores. Esto produce ondas indirectas (ondas I), que refleja la activación trans-sináptica de las neuronas corticoespinales, expresada en varias volutas descendentes hacia la médula espinal (Di Lazzaro et al., 1998; Fertoni & Miniussi, 2017; Rossini et al., 1994; Rossini et al., 2015).

Por lo tanto, la estimulación eléctrica no invasiva permite, mediante la colocación de electrodos en el cuero cabelludo, elegir el área de interés a estimular, siendo esto una ventaja. Sin embargo, la energía administrada se encuentra con una gran resistencia de los tejidos (cuero cabelludo, cráneo), por lo que es necesario aumentar el voltaje de estimulación para alcanzar la profundidad deseada para una estimulación efectiva, pudiendo generar molestias o dolor a los sujetos. Este inconveniente se soluciona con otras técnicas como la estimulación magnética transcraneal (EMT) (Tarazona et al, 2015).

2.1.2 Estimulación magnética transcraneal

La EMT es una técnica neurofisiológica que permite inducir una corriente eléctrica a nivel cerebral mediante un campo magnético que atraviesa el cuero cabelludo y el cráneo sin causar dolor.

El estimulador magnético se compone de condensadores que almacenan la energía necesaria, y la descargan en distintas condiciones de intensidad, duración y forma del estímulo requeridas, para generar un campo eléctrico en la bobina de estimulación. Dichas características del campo eléctrico y la geometría de la bobina de estimulación determinan la amplitud y la forma del campo magnético (variable en el tiempo) que es generado, el que a su vez determina la densidad y la focalización de la corriente secundaria inducida en el tejido cerebral.

El campo magnético generado en la bobina actúa de puente entre la corriente primaria (generada por los condensadores) y la corriente secundaria (creada en el tejido estimulado). Si el campo eléctrico inducido es de intensidad suficiente, podría dar lugar a la despolarización de la membrana de las células nerviosas y al inicio de un potencial de acción (Bobadilla, H. y Fierro, M.; 2002).

El campo eléctrico inducido y el flujo de corriente resultante en el córtex son proporcionales a la tasa de cambio del campo electromagnético inducido, es decir, es producto de un campo magnético variable en el tiempo, y opera por tanto, de manera distinta a los campos magnéticos estáticos que no inducen por sí mismos potenciales de acción.

Además, la relación espacial entre la corriente tisular inducida y los axones estimulados determina la eficacia de EMT para inducir potenciales de acción en neuronas corticales. Las curvas axonales se han destacado como una importante característica espacial que determina la susceptibilidad de las neuronas corticales a ser estimuladas con la EMT (Maccabee, Amassian, Eberle, & Cracco, 1993): la corriente eléctrica inducida por EMT produce una despolarización transmembrana en axones susceptibles dentro del campo. Los que tienen más probabilidades de activarse son aquellos que cambian su orientación en relación con el campo eléctrico inducido.

Los potenciales de acción inducidos por EMT en los axones corticales se propagan trans-sinápticamente a otras neuronas, lo que resulta en una propagación de la activación neuronal a áreas corticales y subcorticales conectadas (Groppa et al., 2012). Si la estimulación se aplica sobre M1, esta descarga de excitación viaja a lo largo del tracto corticoespinal y la motoneurona, lo que da como resultado respuestas musculares que pueden registrarse como potenciales motores evocados (PEM) mediante electromiografía de superficie.

Es importante tener en cuenta que, a nivel neuronal, la estimulación magnética excita los nervios a través del mismo mecanismo que la estimulación eléctrica convencional (Barker, Jalinous, & Freeston, 1985). Por lo tanto, el campo magnético en sí no estimula las neuronas corticales. El campo magnético que cambia rápidamente en el tiempo solo sirve como medio para inducir una corriente eléctrica en el tejido neural. Es la corriente eléctrica inducida la que despolariza los axones corticales y dispara los potenciales de acción a intensidades de estímulo umbral (Groppa et al., 2012).

A. Pulso simple

La utilización de pulsos magnéticos simples ha mostrado ser de gran utilidad en el estudio de las vías motoras centrales y periféricas, tanto en pacientes como en sujetos sanos, lo cual ha

llevado a utilizarla como medio para el diagnóstico en neurología y también en el estudio de funciones cognitivas superiores (Ziemann, Rothwell, & Ridding, 1996).

Dos formas de onda diferentes a las que se hace referencia como pulsos "monofásicos" o "bifásicos" se usan comúnmente para el TMS clínico. La forma de onda tiene un impacto significativo en las características de estimulación y, por lo tanto, debe considerarse cuando se aplica EMT de forma diagnóstica (Rossini et al., 2015).

El pulso de corriente monofásico consiste en un fuerte flujo de corriente inicial que induce un campo magnético de 1–2.5 Tesla que se alcanza aproximadamente 50 microsegundos después del inicio del pulso. La parte inicial del pulso monofásico está equilibrada por una corriente de retorno críticamente amortiguada (Hess, Mills, & Murray, 1987; Ziemann & Rothwell, 2000). El flujo de corriente inicial que cambia rápidamente es el único fisiológicamente efectivo, mientras que la corriente inversa amortiguada no produce estimulación neuronal en el cerebro. En contraste con la forma de onda de la corriente monofásica, cada fase del estímulo bifásico induce una corriente tisular fisiológicamente significativa que fluye en la misma dirección u opuesta a la fase de aumento inicial del pulso bifásico. Si bien todos los componentes actuales del pulso bifásico contribuyen a la estimulación eléctrica de la corteza, la segunda fase (reversa) tiene la mayor amplitud y duración (Rossini et al., 2015).

Por otro lado, la EMT de pulso simple permite evaluar el umbral motor, que es la intensidad mínima necesaria para desencadenar un PEM en el músculo diana cuando la EMT se aplica en la M1. Este umbral refleja la excitabilidad de un núcleo de proyección corticoespinal hacia el músculo objetivo. El umbral motor es más bajo en los músculos intrínsecos de la mano y más alto en los músculos proximales del brazo, tronco y extremidades inferiores (Ziemann, 2013). Umbrales similares se pueden obtener a nivel de cualquier región de la corteza cerebral (i.e., umbral de fosfenos en la corteza visual), pero el umbral motor se obtiene específicamente sobre el área motora primaria. Además, a partir de intensidades de estimulación relativas al umbral motor se puede identificar el patrón de reclutamiento interneuronal relacionado con el funcionamiento del tracto corticoespinal (Ziemann & Rothwell, 2000). Este reclutamiento se determina gráficamente a través de la curva estímulo-respuesta. De esta manera también se puede conocer la participación de neuronas circundantes al punto de estimulación, las cuales tienen un umbral mayor por no encontrarse en el punto exacto de estimulación ("*hot spot*"). El

reclutamiento neuronal producido por la EMT también puede verse incrementado o disminuido por la acción de fármacos (Rossini et al., 1994; Rossini et al., 2015).

La amplitud del PEM que se obtiene de un estímulo con EMT suele medirse de pico a pico, aunque a veces también se mide en función del área, y el mismo expresa el equilibrio excitador/inhibidor de conexiones intracorticales sobre la motoneurona corticoespinal. Si se relaciona el PEM con el potencial de acción muscular compuesto máximo (CMAP) generado por la estimulación eléctrica supramáxima del nervio periférico, la amplitud del PEM proporciona una estimación de la fracción de neuronas corticoespinales activadas por EMT (Rossini et al., 1999).

La amplitud del PEM aumenta proporcionalmente con la intensidad del estímulo (Devanne, Lavoie, & Capaday, 1997; Hess et al., 1987). Esta curva de intensidad o curva de reclutamiento consiste en amplitudes PEM bajas en la intensidad del estímulo alrededor del umbral motor, una parte pronunciada donde ocurren grandes cambios en la amplitud PEM con pequeños cambios en la intensidad del estímulo, y una parte de la meseta donde la amplitud PEM se satura a intensidades de estímulo altas (Groppa et al., 2012).

A una intensidad de estímulo muy baja, la descarga o volea corticoespinal que resulta en el PEM a menudo consiste en una sola onda I (I1, transináptica), mientras que la volea corticoespinal se vuelve más compleja y consiste en ondas I tardías adicionales (I2-I4 además de I1) a intensidades de estímulo más altas (Di Lazzaro, Ziemann, & Lemon, 2008). En contraste con la onda I1, las ondas I tardías son modificables por muchos procesos. Actualmente se piensa que las ondas I tardías se originan por activación transináptica de las neuronas corticoespinales a través de cadenas de interneuronas excitadoras, que son controladas por muchos neurotransmisores, y sobre las cuales podrían a su vez actuar interneuronas inhibitoras (Di Lazzaro et al., 2008; Ziemann & Rothwell, 2000).

Con todo esto observamos que desde que se aplica un pulso desde la EMT en M1 hasta que se produce una respuesta muscular, la descarga necesita viajar a lo largo del tracto corticoespinal, teniendo que atravesar en su camino varias sinapsis. Es por esto que la excitabilidad espinal, así como la transmisión neuromuscular puede condicionar la respuesta del PEM final que se registra (Di Lazzaro et al., 2008). Esto explica que los PEM corticales muestran una variabilidad sustancial de prueba a prueba incluso cuando se mantienen los ajustes de estimulación. Esta

variabilidad puede atribuirse a las fluctuaciones intrínsecas de la excitabilidad corticomotora, tanto cortical como espinal; si bien tiene menos importancia en reposo, este efecto es muy importante si se estudia la excitabilidad mientras el sujeto realiza una tarea motora.

B. Doble pulso

La EMT de pulso pareado permite la evaluación de la inhibición y la facilitación intracortical, producto de la activación de interneuronas corticales excitadoras e inhibitoras. Consiste en la aplicación de un estímulo doble, procedente de una misma bobina, con una intensidad determinada y separados por un intervalo interestímulo (IIE) de tiempo variable. El primer estímulo se conoce como estímulo condicionante (en la mayor parte de los casos sub-umbral) y el segundo estímulo, supraumbral generalmente, es el condicionado, que en ausencia del condicionante se denomina Test (Amandusson, Flink, & Axelson, 2017). Lo que sucede es que el estímulo condicionante es capaz de actuar sobre redes interneuronales excitatorias e inhibitoras (en función de sus características) que a su vez actúan sobre las neuronas piramidales. Las amplitudes (generalmente pico a pico) o áreas del PEM se verán aumentadas o disminuidas en función de la red interneuronal (excitatoria o inhibitora) que se está activando por el pulso condicionante actuando sobre la descarga de la neurona piramidal en el momento del estímulo condicionando. El grado de facilitación o inhibición se calcula como la ratio entre la respuesta condicionada y la respuesta Test (i.e., respuesta cuando el estímulo supraumbral no es condicionado) (Cash, Ziemann, Murray, & Thickbroom, 2010; McDonnell, Orekhov, & Ziemann, 2006).

Los estudios se realizan generalmente con el músculo objetivo en reposo dado que la contracción del músculo diana puede alterar fuertemente los hallazgos de la EMT. Por ejemplo, la contracción resulta en una reducción significativa de la inhibición intracortical de corto intervalo (SICI), que es un proceso de inhibición testado con IIE comprendidos entre 1-5 ms (Kujirai et al., 1993; Ridding & Rothwell, 1995). La SICI se obtiene cuando un estímulo condicionante subumbral es seguido por un estímulo condicionado supraumbral (Kujirai et al., 1993) y se debe a una inhibición cortical relacionada especialmente con sistemas GABA-a (Nakamura, Kitagawa, Kawaguchi, & Tsuji, 1997). La actividad electromiográfica debe ser monitoreada y registrada para determinar el estado de relajación o actividad muscular. La intensidad del estímulo de Test se establece para permitir observaciones de inhibición y facilitación, generalmente con amplitudes de 0.5 a 1 mV para los músculos de las manos o 110 a 120% del umbral motor en reposo.

Hay dos fases de SICI, con un pico de IIE de 1 ms y 2.5 ms. La SICI a 1 ms puede estar relacionada en parte con la refractariedad neuronal, pero también puede implicar una inhibición sináptica (Hanajima et al., 2003; Roshan, Paradiso, & Chen, 2003; Schiffer, Stinchfield, & Pascual-Leone, 2002). La SICI a 2, 2.5, o 3 ms probablemente representa una inhibición post-sináptica mediada por receptores de ácido gamma-aminobutírico tipo A (GABA-a) porque los fármacos que mejoran la neurotransmisión GABAérgica aumentan la SICI (Di Lazzaro et al., 2006; Ziemann et al., 1996).

Con un protocolo similar al SICI pero con IIE más largos (de 6 a 30 ms) puede obtenerse la facilitación intracortical (ICF) (Kujirai et al., 1993). ICF refleja una verdadera facilitación porque tiene un umbral más alto y una sensibilidad diferente al cambio en la dirección de la corriente del estímulo (Ziemann et al., 1996). Los circuitos glutamatérgicos excitadores en M1 pueden estar involucrados (Ziemann, 2004) y se ha sugerido que esta forma de facilitación podría resultar del reclutamiento de circuitos corticales adicionales separados de los que se activan más fácilmente mediante la estimulación con un solo pulso (Di Lazzaro & Rothwell, 2014). Sin embargo, la base fisiológica de la ICF aún no se conoce en profundidad (Di Lazzaro et al., 2006).

Por otro lado, la inhibición cortical de largo intervalo (LICI) se refiere a la inhibición de un PEM mediante un estímulo condicionante supraumbral. Una particularidad de este protocolo es que ambos pulsos son de la misma intensidad. De tal forma el pulso condicionante (el primero que se aplica) sirve para condicionar el segundo pulso y al mismo tiempo como estímulo Test, por lo que el grado de inhibición se calcula con la ratio de la amplitud del segundo pulso (condicionado) respecto a la del primero (incondicionado). El IIE utilizado en este protocolo es mayor que en casos previos, siendo entre 50–200 ms antes (Sanger, Garg, & Chen, 2001; Valls-Sole, Pascual-Leone, Wassermann, & Hallett, 1992; Wassermann et al., 1996). La LICI es un proceso de inhibición cortical (Nakamura et al., 1997) probablemente mediada por los receptores gamma-aminobutírico tipo B (GABA-b) (McDonnell et al., 2006; Muller-Dahlhaus, Orekhov, Liu, & Ziemann, 2008; Werhahn, Kunesch, Noachtar, Benecke, & Classen, 1999). Para pruebas exhaustivas de LICI se debe probar una gama de IIE de 50 a 300 ms. Los IIE de particular interés pueden probarse más a fondo con diferentes intensidades del estímulo de acondicionamiento. Para las pruebas LICI abreviadas, se suele utilizar IIE de 100 o 150 ms. Después de LICI, se ha descrito un fenómeno de desinhibición cortical tardía (que representa

un período muy robusto de facilitación tardía) (Cash et al., 2010; Caux-Dedeystere et al., 2014). Los IIE más cortos, por debajo de 100ms, apenas se utilizan para este protocolo de evaluación de la excitabilidad cortical, debido a que parecen estar influenciados por mecanismos inhibitorios a nivel espinal producto de que el primer pulso, al ser supraumbral, desencadena potenciales de acción y modifica el balance excitador/inhibidor espinal, que se considera reestablecido a partir de 100ms.

A pesar de que los protocolos previamente descritos son los más ampliamente utilizados para una evaluación de la excitabilidad cortical, existen muchos más protocolos, no solo para evaluar la excitabilidad cortical en M1, sino también para evaluar la conectividad entre distintas áreas corticales, la integración sensitivo-motora, etc. La descripción de dichos protocolos puede encontrarse en distintas revisiones bibliográficas (Brunoni & Vanderhasselt, 2014; Groppa et al., 2012; Lefaucheur et al., 2014; Rossini et al., 2015).

2.2 Técnicas para la modificación de la excitabilidad cortical

Al margen del conjunto de técnicas expuestas hasta el momento que permiten la evaluación de la integridad funcional de circuitos corticales, existen otras técnicas, algunas derivadas de las ya presentadas, que permiten modificar la excitabilidad del área estimulada, y a su vez a través de conexiones funcionales con otras estructuras, de poblaciones neuronales corticales y subcorticales no directamente estimuladas. La duración de sus efectos varía en función de la técnica y modo de aplicación. Tras una sola sesión el efecto dura durante varios minutos, pero se ha observado que dicho efecto aumenta en duración si la estimulación se aplica durante sesiones sucesivas no distantes temporalmente entre ellas (Chen et al., 2008; Pommier et al., 2018). Ello ha permitido la inclusión de dichas técnicas en el ámbito clínico (en el caso de alguna de ellas para tratar ciertas patologías motoras y neuropsiquiátricas) y en el campo de la investigación, del sistema nervioso en general (Lefaucheur et al., 2017; Leon-Sarmiento, Granadillo, & Bayona, 2013). Básicamente, podemos dividir estas técnicas en función de si su modo de actuación se basa en la inducción/aplicación o no de campos eléctricos en el cerebro. Siendo ejemplos de las primeras, la estimulación magnética transcraneal repetitiva (EMTr) y la estimulación por corriente directa transcraneal (ETCD); y de la segunda, la aplicación de campos magnéticos estáticos aplicados transcranealmente (CME).

2.2.1 Técnicas que inducen o aplican campos eléctricos en el cerebro.

Los cambios en la excitabilidad cortical inducidos por parte de estas técnicas dependen de distintas variables. En el caso de la ETCD pueden ser la intensidad de corriente, el tamaño de los electrodos y por tanto la densidad de la corriente o la duración de la estimulación. En este tipo de técnica, la polaridad juega un papel fundamental, es decir, se ha observado que la estimulación anódica provoca un aumento de la excitabilidad cortical por el aumento de la despolarización de las membranas celulares y por el contrario, en la estimulación catódica, se produce una hiperpolarización de las membranas, lo que hace que disminuya la excitabilidad (Ehlis, Haeussinger, Gastel, Fallgatter, & Plewnia, 2016). A pesar de que dicha observación ha sido consistente en los primeros años de aplicación de las técnicas, actualmente se sabe que los efectos de este tipo de estimulación son más complejos y que pueden variar con la duración o intensidad de la estimulación. De hecho, protocolos clásicamente descritos como inhibidores (ie., estimulación catódica) puede resultar en facilitación si la intensidad de la misma y su duración aumentan (Kuo & Nitsche, 2015). La ETCD es una técnica utilizada en numerosos estudios para explorar funciones como el control ejecutivo, el lenguaje o la memoria, las cuales están relacionadas con la corteza prefrontal (Price, McAdams, Grossman, & Hamilton, 2015).

Por otra parte, existe mucha bibliografía utilizando EMTr que se ha centrado en los efectos producidos tras la estimulación de M1, puesto que la excitabilidad de esta área se mide con facilidad. Dicha técnica consiste en aplicar estímulos consecutivos con un IIE corto. Generalmente, estos pulsos se agrupan en trenes de estimulación (Rossini & Caramia, 1992). En relación a las frecuencias de su estimulación hay cierto consenso sobre el efecto de esta técnica sobre M1, donde se estipula que las frecuencias por debajo de 1 Hz son principalmente inhibitorias, mientras que los estímulos repetidos a una frecuencia de 5 Hz o más, presentan un efecto mayormente facilitador. Esta modulación la miden a través de la amplitud obtenida de los PEM tras la aplicación de los trenes de estimulación (Rossini et al., 2015).

De cualquier modo, actualmente los protocolos de estimulación con EMTr han evolucionado buscando mayor eficiencia, con el objetivo de obtener efectos duraderos con menor duración en la aplicación de la estimulación. Este es el caso de la estimulación *theta-burst* (TBS, del inglés *theta-burst stimulation*). El patrón de estimulación TBS se caracteriza por la aplicación de triplete de estímulos con una frecuencia de 50 Hz, aplicados en *bursts* (ráfagas) en un rango

de estimulación *theta*, es decir, 5 de esos tripletes por segundo (Huang, Edwards, Rounis, Bhatia, & Rothwell, 2005).

Dicho patrón puede ser aplicado de manera continua, dando lugar al *cTBS* o de manera intermitente *iTBS*. El *cTBS* se aplica durante 40s, alcanzando los 600 estímulos (3 x 5 x 40). El *iTBS* también aplica dichos tripletes, en el rango *theta* (5 por segundo) pero en lugar de hacerlo durante 40s seguidos, lo hace inicialmente durante 2 segundos, y tras 8 segundos sin estimulación, reinicia la estimulación con la misma cadencia (2-8), es decir 2 segundos de estimulación cada 10, hasta alcanzar los 600 pulsos, para lo que necesita algo más de 3 minutos. Los efectos del *cTBS* e *iTBS* son análogos a la EMTr de baja y alta frecuencia respectivamente, es decir la *cTBS* reduce la excitabilidad, y la *iTBS* la aumenta, si bien al igual que en el caso de la alta y baja frecuencia, y la ETCD anódica y catódica, hay bastantes diferencias interindividuales en la respuesta, sin que las razones se comprendan con exactitud (Viejo-Sobera et al., 2017).

Existe cierta discrepancia en la comunidad científica sobre los efectos de la EMTr sobre otras áreas cerebrales, puesto que se han obtenido resultados opuestos en función de si la técnica era aplicada sobre sujetos sanos o sujetos con algún tipo de patología. Además, la forma de medir los cambios en la excitabilidad cortical se producía a través de pruebas de neuroimagen funcional como el electroencefalograma (EEG) (Ilmoniemi et al., 1997; Lefaucheur et al., 2014; Rossini et al., 2015).

Aunque la ETCD y la EMTr son las más empleadas y las más investigadas, existen otros tipos de estimulación que inducen o aplican campos eléctricos en el cerebro. Uno de ellos es la estimulación transcraneal por corriente alterna (ETCA), técnica que utiliza corrientes alternas administradas a diferentes frecuencias, con el objetivo de interactuar con las neuronas corticales en curso. Las corrientes también pueden suministrarse a una velocidad de oscilación no fija pero con frecuencias cambiantes al azar a través de la estimulación: ésta sería la estimulación transcraneal de ruido aleatorio (ETRA) (Fertonani & Miniussi, 2017; Paulus, 2011). El potencial terapéutico de dichas técnicas aún está en las primeras fases de investigación.

2.2.2 Técnicas que no inducen campos eléctricos en el cerebro: Estimulación con campos magnéticos estáticos.

La aplicación de los campos magnéticos estáticos (CME) es una técnica novedosa que ha demostrado modular la excitabilidad cortical en humanos (Oliviero et al., 2011). Kirimoto et al. (2014), Nojima et al. (2015) y Oliviero et al. (2011) afirman que dicha técnica aplicada en M1 reduce la excitabilidad cortical, además de poder alterar los circuitos inhibitorios intracorticales, que se asocian con el ácido gamma-aminobutírico (Ziemann, 2004). Su mecanismo de actuación aún se desconoce pero se cree que los campos magnéticos actúan a nivel cortical, trans-sinápticamente (input a las células piramidales desde conexiones horizontales) modificando la eficiencia sináptica (Oliviero et al., 2011). Rosen et al. (2003) afirman que los CME de alta potencia pueden afectar la orientación de los fosfolípidos de membrana debido a su anisotropía diamagnética, lo que provocaría una deformación de los canales iónicos de membrana dependientes de voltaje y por tanto, alteraría su cinética de activación (Balcavage et al., 1996; Coats, Shi, & Rosen, 2004; Rosen, 2003). Además, como se ha visto que la polaridad no es relevante (Oliviero et al., 2011) durante la estimulación con CME, algunos autores sugieren que las estructuras diana pueden ser ferromagnéticas o diamagnéticas (atraídas o repelidas por ambos polos respectivamente). Recientemente se ha estudiado la seguridad en la aplicación de los CME, lo cual es un paso importante debido a su potencialidad clínica y bajo coste. Su capacidad de modificar la actividad cerebral le permite ser concebida como una posible forma de tratamiento importante en patologías neurológicas (Oliviero et al., 2015; Oliviero et al., 2011). Aún así, es necesario conocer más profundamente las posibles aplicaciones y sus efectos.

Se ha demostrado que la aplicación de CME sobre M1 inhibe transitoriamente los PEM pero no modula el umbral motor en reposo, lo que indica que puede no afectar a las membranas de las neuronas piramidales (Silbert, Pevcic, Patterson, Windnagel, & Thickbroom, 2013), tampoco parece alterar el nivel de integración sensitivo-motora en la corteza motora (Arias, Adan-Arcay, Puerta-Catoira, Madrid, & Cudeiro, 2017).

De similar manera se ha observado un efecto de la aplicación de los CME en áreas ajenas a la M1, como en la corteza somatosensorial primaria (Kirimoto et al., 2014), cerebelo (Matsugi & Okada, 2017) o en el sistema visual humano (Gonzalez-Rosa et al., 2015) o de primates (Aguila, Cudeiro, & Rivadulla, 2016). Además, Nakagawa et al. (2019) demostró la posibilidad de

modulación de la excitabilidad de los circuitos neurales espinales con un campo magnético estático aplicado a través de la columna vertebral.

A nivel del comportamiento motor se ha indicado que la aplicación de CME sobre M1 reduce la fuerza voluntaria (Nakagawa, Sasaki, & Nakazawa, 2019).

2.3 Corteza prefrontal dorsolateral

La corteza prefrontal dorsolateral (CPF DL) es una parte del lóbulo frontal ubicada por encima de la corteza orbitofrontal de ambos hemisferios cerebrales. La corteza prefrontal forma la región filogenéticamente más reciente y es la más grande de la corteza frontal. Se divide en tres grandes regiones: la región dorsolateral, la región orbitofrontal y la región ventrolateral (Stuss & Levine, 2002). Estas zonas se consideran regiones asociativas de tipo cognitivo y supramodales ya que no reciben estímulos sensoriales directos, lo que supone gran importancia para establecer conexiones funcionales entre todas las zonas que la constituyen (Peng, Steele, Becerra, & Borsook, 2018).

Además, cada una de estas regiones están subdivididas en diversas áreas. La citoarquitectura descrita por Brodmann que forman el área dorsolateral son la 9, 10, 46, y la parte superior del área 47. En estas regiones encontramos distintos tipos de neuronas: con axón corto sobresalen las neuronas granulares, mientras que con axón largo encontramos las neuronas fusiformes y piramidales gigantes (Pommier et al., 2017).

Si nos centramos en la CPF DL, observamos nuevamente una división de zonas: la superior, la inferior y el polo frontal. La CPF DL integra la información que procede de las áreas de asociación unimodal y heteromodal, y de las zonas paralímbicas. Una de sus principales funciones es la de propiciar la interacción inicial entre la información sensorial que recibe del córtex posterior y la información procedente del sistema límbico y el córtex paralímbico (Groenewegen, Wright, & Uylings, 1997). Esta interacción implica canales sensoriales en un formato más abstracto, por ejemplo, la atención y la orientación del cuerpo en el espacio. De manera más genérica, la función que cumple la CPF DL es la planificación motora (Peng et al., 2018), la organización y la regulación de funciones intelectuales (Morris, Ahmed, Syed, & Toone, 1993). Constituye un centro integrador de información relativo a la memoria y sensorial, por lo que permite el razonamiento, la formación de conceptos y la generación de acciones

voluntarias o el proceso de la memoria de trabajo. En concreto, el área 10 de Brodmann, que ocupa la zona frontopolar, es por si misma necesaria en importantes procesos cognitivos tales como el razonamiento o la planificación involucrados cuando manejamos con la mente objetos mientras exploramos y procesamos objetos secundarios (Peng et al., 2018).

En cuanto a las funciones ejecutivas, la porción dorsolateral se encuentra estrechamente relacionada con los procesos de planificación, es decir, con la capacidad para integrar, secuencias y desarrollar pasos intermedios para lograr metas a corto y largo plazo. Por otra parte, como ya se ha mencionado, la memoria de trabajo, la capacidad para mantener información de forma activa por un breve periodo de tiempo, también forma parte de sus funciones ejecutivas, así como la fluidez (la velocidad y la precisión en la búsqueda y actualización de la información) y la solución de problemas complejos (Morris et al., 1993). Otras funciones derivadas de las anteriormente mencionadas son la flexibilidad mental (la capacidad de cambiar un esquema de acción o movimiento), la generación de hipótesis o estrategias de trabajo (Badgaiyan & Posner, 1997). Las porciones más anteriores polares de la CPFDL se encuentran relacionadas con los procesos de mayor jerarquía cognitiva como la metacognición permitiendo la autoevaluación y el ajuste de la actividad en base al desempeño continuo y en los aspectos psicológicos evolutivos más recientes del humano, como la cognición social y la conciencia de autoconocimiento, logrando una completa integración de las experiencias emocionales y cognitivas de los individuos (Fernandez-Duque, Baird, & Posner, 2000; Stuss & Levine, 2002).

2.3.1 Efectos de las TECNI sobre la CPFDL

La CPFDL, como ya hemos dicho, ha demostrado estar implicada en gran cantidad de procesos cognitivos y motores, entre ellos están las funciones ejecutivas, la atención, la memoria o la planificación temporal, así como el control inhibitorio, coordinación y modulación de la conducta. Todo esto es debido a la multitud de conexiones que establece con otras áreas cerebrales. La gran mayoría de las TECNI aplicadas a la CPFDL tienen como objetivo la actuación en alguna de estas funciones. Además, casi toda la bibliografía aborda la aplicación de EMTr y ETCD sobre la misma.

Existen una gran cantidad de estudios que abordan el tratamiento de la adicción a sustancias y el deseo de consumo, también llamado “craving”. Coles et al. (2018) afirman que la EMTr y la

ETCD en CPFDL tienen efectos beneficiosos sobre el “craving” en personas con abuso de sustancias (Coles, Kozak, & George, 2018). Kelley et al. (2019) afinan un poco más y apoyan dichos resultados en el caso de la ETCD sobre el CPFDL derecho, incluyendo el “craving” por la comida. En relación a la EMTr se ha visto que la alta frecuencia reduce la ansiedad por el consumo de tabaco, alcohol y cocaína (Kelley, Gallucci, Riva, Romero Lauro, & Schmeichel, 2018). Y en el caso de sesiones múltiples podría disminuir la cantidad de consumo de alcohol y tabaco (Barr et al., 2011). Por el contrario, Song et al. (2018) afirman que ambas técnicas tienen poco efecto en el “craving” y que son más efectivas disminuyendo la cantidad de consumo. Además, comparan las sesiones únicas de estimulación frente a múltiples sesiones, obteniendo que las sesiones reiteradas alargan el efecto de los resultados. También reportan que no existen diferencias entre el efecto de las TECNI empleadas en los diferentes consumos (Song, Zilverstand, Gui, Li, & Zhou, 2019). Este gran deseo de consumo se puede comparar con ciertos desórdenes de ansiedad, donde se ha visto que la ETCD y EMT pueden modular su sintomatología, influyendo también en procesos atencionales (Sagliano, Atripaldi, De Vita, D'Olimpio, & Trojano, 2019).

Otro gran grupo de literatura se enfoca al abordaje del estado de ánimo y depresión, donde sí parece haber evidencia contundente de los efectos beneficiosos de la EMTr. Dinkelbach et al. (2017) llevaron a cabo una comparación entre EMTr y ETCD sobre la CPFDL en relación al estado de ánimo o cognición. Obtuvieron que la EMTr de alta frecuencia redujo significativamente las puntuaciones de síntomas depresivos con mayor rendimiento en funciones cognitivas. Sin embargo, la ETCD anódica y catódica no obtuvieron mejoras (Dinkelbach, Brambilla, Manenti, & Brem, 2017). Este resultado se ve apoyado por la gran mayoría de estudios, sin embargo, algunos difieren en la frecuencia de aplicación de la EMTr, afirmando que la baja frecuencia sobre la CPFDL derecha obtiene efectos antidepresivos (Lefaucheur et al., 2014), mientras que otros autores afirman que los síntomas depresivos son mejorados con la alta frecuencia (Hoppner et al., 2010). Los mecanismos subyacentes a estos efectos aún no se conocen en profundidad, es por ello que Brunoni et al. (2014) intentaron estudiar si los efectos antidepresivos de las TECNI estaban asociados con efectos neurotróficos procedentes del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), obteniendo que dicho marcador no vale para cuantificar la respuesta antidepresiva ya que no se veía aumentado tras cada estimulación (Brunoni, Baeken, Machado-Vieira, Gattaz, & Vanderhasselt, 2015).

El abordaje del dolor mediante las TECNI representa un gran campo de investigación, incluyendo en él patologías muy variadas que cursan con cuadros de dolor, donde la fibromialgia toma gran relevancia. En relación a esta patología hay controversia, ya que algunos autores afirman que tanto la EMTr como la ETCD sobre el CPFDL no reducen los niveles de dolor (Hou, Wang, & Kang, 2016). Sin embargo, a nivel clínico la ETCD de alta densidad, la estimulación transcraneal de ruido aleatorio (ETRA) y la estimulación transcraneal de corriente alterna (ETCA) parecen tener resultados beneficiosos (Brighina et al., 2019). Se ha visto que la CPFDL es una región clave del cerebro para varios aspectos del dolor, incluyendo la tolerancia al mismo. Así se ha demostrado en un estudio donde la aplicación de ECdT anódica en CPFDL izquierda aumenta la tolerancia al dolor por calor (Kelley et al., 2018). Una sola revisión dice que la EMTr de alta frecuencia tiene evidencia suficiente (nivel A) sobre el efecto analgésico con la aplicación en CPFDL izquierdo (Lefaucheur et al., 2014). El resto de literatura afirma no haber consistencia suficiente para realizar esta afirmación.

Por otro lado, existe literatura que aborda exclusivamente la mejora de funciones cognitivas a través de las TECNI. Entre estas se encuentran que la ETCD y la EMTr en la CPFDL mejora la memoria de trabajo (Kuo & Nitsche, 2015). La EMTr excitadora o de alta frecuencia mejora significativamente los tiempos de reacción, obtiene un mayor porcentaje de aciertos y menos número de errores en una tarea N-back, mientras que las diferentes modalidades de ETCD sólo mejoran los tiempos de reacción (Russowsky et al. 2014). Además, de manera general se ha descrito que la aplicación de las TECNI sobre la CPFDL izquierda mejora el procesamiento de estímulos positivos y se ve reducida la atención selectiva para los estímulos que expresan ira o amenaza (Mondino, Thiffault, & Fecteau, 2015). Estos datos se han observado con la aplicación de EMTr de 10 Hz y 0,6 Hz y de la ETCD anódica sobre la CPFDL izquierda. Cuando se aplican estas mismas técnicas y con los mismos parámetros sobre la CPFDL derecha aumenta la atención selectiva para estos mismos estímulos (Clarke, Browning, Hammond, Notebaert, & MacLeod, 2014; d'Alfonso, van Honk, Hermans, Postma, & de Haan, 2000; De Raedt et al., 2010; Vanderhasselt, De Raedt, Leyman, & Baeken, 2010). Se necesita mayor investigación ya que con los protocolos de estimulación se modulan todos estos dominios cognitivos en conjunto (Tremblay et al., 2014). De especial interés para los objetivos de este trabajo son los estudios que evalúan los cambios en el sistema motor producto de la estimulación de la CPFDL. Existen distintas aproximaciones al estudio de dichos efectos. Una primera fuente de información son los estudios en pacientes con trastornos en el sistema motor, en los que la estimulación en la CPFDL provoca cambios en su comportamiento motor. Uno de los ejemplos más estudiados es

la enfermedad de Parkinson (EP). En dicha patología, de gran componente motor, la estimulación por corriente transcraneal anódica de la CPFDL izquierda mejoró el equilibrio y la movilidad de los pacientes comparado con la estimulación placebo (Lattari et al., 2017). Utilizando otra TECNI, Dagan et al. (2017) indicaron que la EMT repetitiva de alta frecuencia, en su modalidad de estimulación profunda, y aplicada sobre la CPFDL, mejoró la variabilidad de la marcha, redujo el número de bloqueos motores y la puntuación motora en la UPDRS, test clínico “*gold-standard*” en la EP. Uno de los mecanismos de acción que explicase dichos efectos podría tener que ver con cambios en la concentración de neurotransmisores en los ganglios de la base, núcleos conectados con la CPFDL, que a su vez proyectan hacia áreas motoras y son básicos en el control motor (Obeso et al., 2008), y cuya concentración de neurotransmisores (concretamente en el caudado) aumenta producto de la EMT repetitiva en la CPFDL (Strafella, Paus, Barrett, & Dagher, 2001).

Al margen de los estudios que permiten entender una interacción indirecta entre la CPFDL y áreas motoras (a través de redes funcionales que implican los ganglios de la base), recientemente se ha comprobado de manera directa que la estimulación de la CPFDL modifica la excitabilidad de M1 evaluada con PEM. En dicho estudio, un protocolo de TBS continuo sobre la CPFDL izquierda aumentó la excitabilidad de la M1 ipsilateral, mientras que el protocolo de TBS intermitente produjo el efecto contrario (Cao et al., 2018). Considerando dicho efecto, y conociendo que otras TECNI como los CME aplicados sobre la CPFDL son capaces de modificar las oscilaciones registradas con EEG tanto en áreas locales (Gonzalez-Rosa et al., 2015) como distantes (Sheffield, Ahn, Alagapan, & Frohlich, 2019), parece pertinente desde la perspectiva fundamental y clínica explorar la posibilidad de que la estimulación con CME aplicados sobre la CPFDL modifique la excitabilidad de M1.

3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Se plantea en el presente trabajo un estudio para intentar conocer los efectos de los CME en la excitabilidad de M1 tras su aplicación en la CPFDL izquierda. En base a los estudios que indican la capacidad de los CME de modificar la excitabilidad cortical (Arias et al., 2017; Oliviero et al., 2011), y de aquellos que indican que la estimulación tetha-burst sobre la CPFDL modifica la excitabilidad de M1, planteamos conocer si la aplicación de los CME sobre la CPFDL produce cambios de la excitabilidad cortical a nivel de M1. De ser así la aplicación de

CME sobre la CPFDL podría ser utilizada para intervenir en el papel de la CPFDL en la planificación y desarrollo de actividades motoras.

Nuestra hipótesis es que la aplicación de CME sobre la CPFDL modificará la excitabilidad de M1.

4. METODOLOGÍA

El presente estudio forma parte de un conjunto de experimentos del grupo NEUROcom-UDC, sobre el efecto de las TECNI en el rendimiento motor en personas sanas. El estudio forma parte de un proyecto de investigación financiado por el MINECO y fue aprobado por el comité de ética de la UDC.

4.1 Participantes

En el presente trabajo se han incluido 16 participantes sanos, de los cuales 9 fueron hombres y 7 mujeres. Todos ellos diestros, neurológicamente sanos y con edades comprendidas entre los 19 y 44 años. Se llevaron a cabo dos sesiones separadas entre sí durante un mínimo de 7 días. Una de las sesiones consistía en la estimulación real con un campo magnético estático sobre la CPFDL izquierda y otra sesión era placebo. En los dos casos se llevó a cabo el mismo protocolo de evaluación de la excitabilidad de M1 y tanto el sujeto participante como el examinador no sabían cuál de las dos aplicaciones se estaba llevando a cabo.

4.2 Instrumentos y Procedimiento

Inicialmente los participantes fueron informados del protocolo experimental, así como las contraindicaciones de su aplicación o posibles efectos secundarios. Se hizo recogida del consentimiento informado.

A continuación, se procedió a monitorizar las variables de una manera sistemática. Los sujetos se ubicaban en sedestación en una silla de pala y se mantenían en reposo. Se colocaban electrodos en el músculo diana, siendo éste el primer dorsal interóseo (PDI), además de colocarse en el extensor del índice y en el extensor común de los dedos de la mano dominante (todos los participantes fueron diestros) para realizar una electromiografía de superficie. Los

electrodos se colocaron siguiendo un montaje monopolar (Figura 1). La actividad EMG y potenciales evocados se registraron con un sistema de amplificación Digitimer D360 (Digitimer Ltd, Hertfordshire, UK), con una ganancia de 250 y un filtrado de la señal que permitía el paso de frecuencias entre 3-3000Hz. La señal amplificada era enviada a una tarjeta analógico/digital CED1401 mkII (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) que registraba la señal y además controlaba el momento de la estimulación para el registro de los potenciales. La frecuencia de registro de los potenciales fue de 0.2Hz.



Figura 1. Colocación de los participantes con los electrodos de superficie y el casco diseñado para la ubicación del imán en la CPFDL.

Tras haber completado la colocación de los instrumentos anteriormente descritos se procedió a realizar el protocolo con las mediciones que a continuación se describen:

I- Estimulación magnética transcraneal (EMT) por par de pulsos en M1 (PRE-evaluación). Lo que se pretende es evaluar la excitabilidad corticoespinal y la inhibición intracortical en M1 (GABA-b dependiente). Para ello se localizó el “hot spot” del PDI, dónde el PEM presentaba mayor amplitud, y se realizó una marca en el cuero cabelludo que permitió posteriormente realizar las estimulaciones en la misma ubicación a lo largo del experimento. Tras su localización se ajustó la intensidad de aplicación, así como el IIE buscando obtener una amplitud del primer PEM entre 0.5-1.5mV y una inhibición del 2º PEM equivalente óptimamente al 50% del primero. A continuación, se registraron 2 bloques de 20 pares de dichos estímulos. De cada uno de los bloques se procedió a la medición de la amplitud del primer PEM

y se halló la media de ambos para en la evaluación post-estimulación buscar dicha amplitud y permitir evaluar el nivel de inhibición (ratio 2ºPEM/1ºPEM) bajo condiciones estables del primer PEM (bloque post *matched amplitude*) (Figura 2). Para la EMT se empleó un estimulador MagPro X100 (MagVenture) con el módulo MagOption, y una bobina mariposa MC-B70. La bobina fue colocada en el hemisferio izquierdo sobre M1, a 45 grados de la línea media y tangencialmente al cráneo.

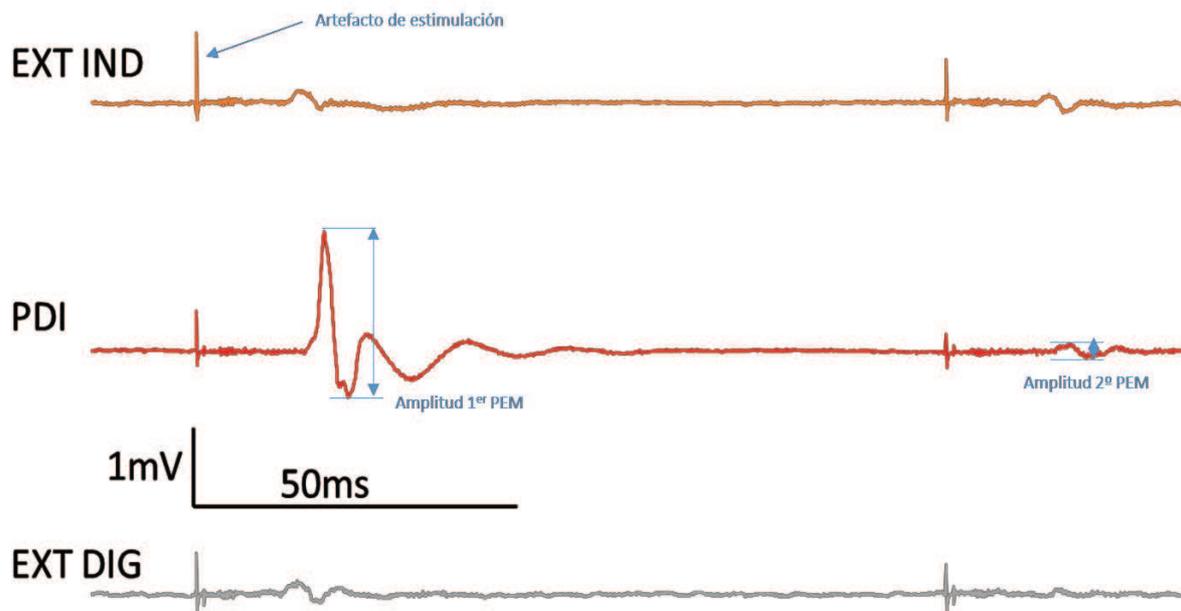


Figura 2. Registro electromiográfico de los PEM a través de la EMT por par de pulsos.
Abreviaturas. EXT. IND; Extensor del índice. PDI; Primer dorsal interóseo. EXT.DIG; Extensor común de los dedos.

2- Posteriormente se aplicó el CME en la CPFDL izquierda. El cilindro magnético empleado fue de Neodimio, de 60 mm de diámetro, 30 mm de grosor y un peso de 370 gramos (MAG60r, Neurek SL, Toledo, España). Este fue colocado en el cuero cabelludo de la CPFDL izquierda. Por otro lado, se utilizó un cilindro no magnético a modo de contrapeso y para mayor comodidad de los sujetos. Dicho cilindro cumplía las mismas dimensiones y características que el MAG60r. Se ubicó en la corteza parietooccipital derecha. Ambos fueron fijados al cuero cabelludo mediante un casco diseñado para poder ajustarse y mantener la estimulación correctamente en presencia de diferentes tamaños craneales (MAGdpv1.1 Neurek SL, Toledo, España; ver Figura 1). La estimulación se produjo durante 15 minutos con el sujeto en reposo, tanto si se trataba de sesión real o la sesión placebo. En la sesión placebo, el cilindro colocado

en la CPFDL izquierda era no magnético, igual que el utilizado como contrapeso. El orden de dichas sesiones fue contrabalanceado en los diferentes participantes. Además, durante la aplicación de los CME se supervisó que el sujeto se encontrara relajado y con los ojos abiertos.

3- Finalmente se volvió a aplicar la EMT por par de pulsos en M1. Se realizaron 2 bloques de 20 estímulos. Uno de los bloques se realizaba a intensidad fija (la anteriormente utilizada en la PRE-evaluación; bloque *fixed-intensity*) y el mismo permitía mediante la evaluación del 1^{er} PEM conocer el efecto de la estimulación sobre la excitabilidad corticoespinal. En el otro bloque se variaba la intensidad de estimulación con la EMT, buscando la amplitud del 1^{er} PEM equivalente a la obtenida en la PRE-evaluación (bloque *matched-amplitude*), para así poder comparar las ratios 2^oPEM/1^{er}PEM obtenidas antes y después del CME con el mismo tamaño del 1^{er} PEM. El orden de registros de los bloques *fixed-intensity* y *matched-amplitude* fue contabalanceado en los distintos participantes. La duración de la evaluación POST fue de unos 5 minutos, tiempo en el que está descrito el máximo efecto de la estimulación con CME (Oliviero et al., 2011). En la tabla 1 se detalla de forma esquemática el protocolo experimental que se ha seguido.

Tabla 1. Protocolo experimental

1		2	3	
PRE-EMT 1	PRE-EMT 2	CME 15 mins	POST- EMT (Int. Fija / Busc. amplitud)	POST-EMT (Int. Fija / Busc. amplitud)

Abreviaturas. CME; Modulación con campos magnéticos estáticos. Cada PRE y POST EMT incluía 20 PEM

4.3 Análisis de datos

El procesado de los datos se hizo con el software MatLab, el cual mediante programas realizados para dicho objetivo permitió calcular las amplitudes (pico a pico) de los potenciales registrados.

El parámetro analizado para cada músculo fue la mediana de los 20 PEM, en los distintos momentos de la evaluación. Para evaluar la excitabilidad corticoespinal, la amplitud del 1^{er} PEM en los distintos momentos de evaluación fue sujeto de una normalización intra-sujeto,

para cada sesión. Así, la media de la amplitud a partir de PRE-1 y PRE-2 fue calculada para cada sujeto y sesión, siendo dicho valor divisor de la amplitud de todos los 1^{os} PEM en los distintos momentos de estimulación, para cada sujeto y sesión. Los valores del LICI se calcularon, para cada momento de evaluación, como la ratio 2^oPEM/1^{er}PEM, considerando para cada una de ellas la mediana de los 20 potenciales.

Finalmente se ha empleado el software IBM SPSS Statistics para el análisis estadístico. Se realizó un análisis ANOVA de medidas repetidas, donde las dos variables analizadas fueron el primer PEM (como indicador de la excitabilidad corticoespinal) y la LICI (inhibición intracortical de M1 GABA-b dependiente). Dentro de ambas, se tuvieron en cuenta los factores de la ESTIMULACIÓN (real o placebo), el TIEMPO (Pre-estimulación 1, Pre-estimulación 2 y Post-estimulación con CME) y el MÚSCULO (extensor del índice, PDI y extensor común de los dedos). Previo a los análisis se comprobó la normalidad de distribuciones (KS-1 muestra) y la esfericidad de las matrices de varianzas en la ANOVA (Mauchly), corrigiendo los grados de libertad con el coeficiente (Greenhouse-Geisser) en caso necesario. Se consideraron efectos y diferencias significativas si el $p < 0.05$.

5. RESULTADOS

5.1 Efectos de los CME en la excitabilidad corticoespinal.

En el análisis del primer PEM que representa la excitabilidad corticoespinal (evaluada con intensidad fija en todos los tiempos) no se encontraron efectos significativos para los factores (ESTIMULACIÓN y TIEMPO, ni su interacción). Se observó sin embargo un efecto principal del factor MÚSCULO ($F=3.495$; $p=0.043$), que indica que el tamaño del primer PEM del PDI fue mayor que el de los otros dos músculos, lo cual se debe a que el PDI era el músculo seleccionado como *hot-spot*. Como el factor MÚSCULO, no presentó interacción significativa con ningún otro factor, ello significa que la amplitud del PDI fue siempre mayor que la de los otros dos músculos en los distintos tiempos de estimulación y en las dos sesiones.

Se debe tener en cuenta que el músculo objetivo de la estimulación ha sido el PDI, por lo que la diferencia significativa en la amplitud de los tres músculos puede ser debido a esta cuestión. Además, hay que considerar que las medias de los PEM estaban sujetas al factor de

normalización, por los que dichas diferencias no se expresan de manera tan palpable, y permiten inferir una mayor estabilidad en la respuesta sobre el *hot-spot* elegido. En la Figura 3 se detallan las medias de amplitud de los PEM para cada músculo, siendo dicho valor el factor de normalización utilizado, y obtenido del promedio de la 1ª y 2ª evaluación previa a la estimulación. Se observa, un efecto significativo del factor MÚSCULO ($F=14.1$; $p<0.001$), sin interacción con el factor ESTIMULACIÓN (que corresponde a las dos sesiones). Por lo tanto la amplitud del PDI fue mayor que la de los otros dos músculos ambos días, antes de aplicar la estimulación con los CME (véase también que la amplitud del extensor del índice es mayor que la del extensor común de los dedos).

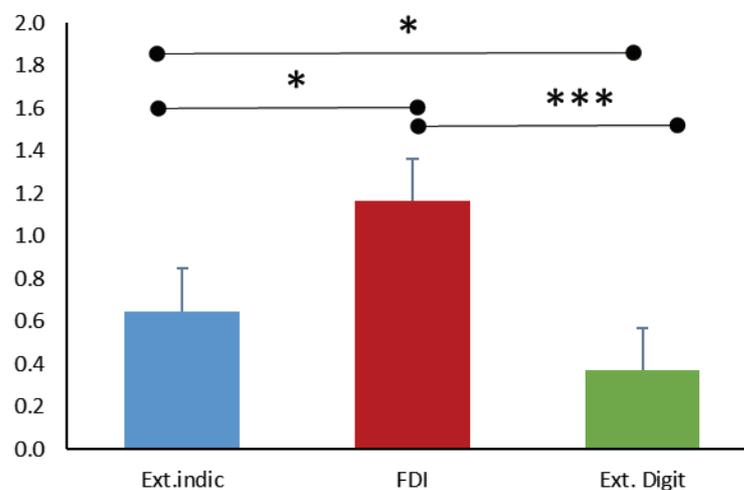


Figura 3. Amplitud media en milivoltios de los PEM en los 3 músculos PRE-estimulación considerando las dos sesiones. Abreviaturas. EXT. IND; Extensor del índice. PDI; Primer dorsal interóseo. EXT.DIG; Extensor común de los dedos, en unidades normalizadas. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; * $p<0.001$.**

5.2 Efectos de los CME en la excitabilidad intracortical.

La ratio entre el 2º/1º PEM expresa la LICI, una inhibición intracortical GABA-b dependiente. Esta ha sido analizada tan sólo en el bloque (*matched-amplitude*) dado que en el mismo la intensidad post estimulación se ajustó para generar amplitudes del 1º PEM \approx PRE, y por calcular la ratio 2º/1º PEM con similares tamaños del potencial TEST y condicionante.

El análisis ANOVA mostró un efecto principal del factor MÚSCULO, que indica que el grado de inhibición fue distinto en los tres músculos $F=8.6$ $p=0.001$, y las comparaciones por pares

posteriores mostraron mayor inhibición en el PDI que en el resto de los músculos (extensor del índice y común de los dedos, que no fueron diferentes entre ellos, Figura 4).

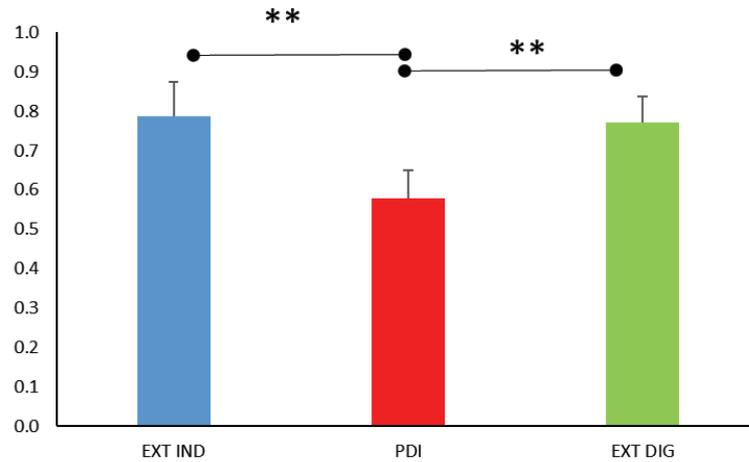


Figura 4. Grado de inhibición (valores normalizados) en los 3 músculos considerando las dos sesiones. Abreviaturas. EXT. IND; Extensor del índice. **PDI;** Primer dorsal interóseo. **EXT.DIG;** Extensor común de los dedos en unidades normalizadas. ** $p < 0.01$.

Asimismo, el análisis indicó un efecto principal del factor TIEMPO, ello significa un cambio en el nivel de inhibición a lo largo de los tres momentos de evaluación $F=5.4$ $p=0.010$, aumentando con el paso del tiempo. No se observó interacción significativa de dicho factor con ninguno de los otros dos factores (MÚSCULO, y ESTIMULACIÓN), lo cual implica que el progresivo aumento de la inhibición cortical con el paso del tiempo se observa en todos los músculos testados y ocurre tanto el día de estimulación *real* como de estimulación *placebo* por lo que dicho efecto se muestra con ambos días agrupados en la Figura 5.

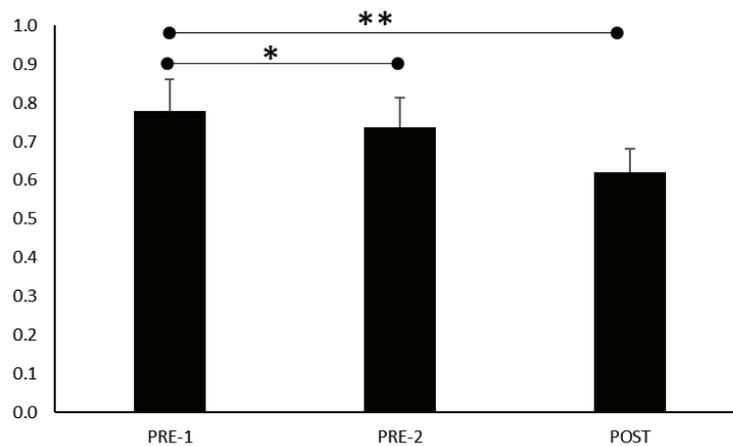


Figura 5. Grado de inhibición a lo largo de los momentos de evaluación considerando las dos sesiones en rango 0-1 (0=100% inhibición; 1=0%inhibición). Abreviaturas. PRE-1; Pre-estimulación 1. **PRE-2;** Pre-estimulación 2. **POST;** Post-estimulación. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

6. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se ha planteado la posibilidad de conocer los efectos de la aplicación de los CME en la CPFDL izquierda sobre la excitabilidad de M1. Este objetivo derivó de la existencia de literatura que afirma que el uso de las TECNI sobre la CPFDL modula la expresión de gran cantidad de redes funcionales cerebrales, en las que está involucrada el área M1. Sin embargo, nuestra hipótesis inicial no ha podido ser confirmada. Inicialmente, cabe mencionar que los participantes no han mostrado efectos adversos ni molestias durante todo el protocolo, lo que secunda lo demostrado por Oliviero et al. (2015) sobre la seguridad de los CME.

A pesar de que actualmente se desconoce el mecanismo de actuación exacto de los CME, existe bibliografía que reporta un efecto inhibitorio de la misma en áreas locales de estimulación, y también efectos en áreas distantes pertenecientes a la misma red funcional cerebral (Kirimoto et al., 2014; Nojima, Koganemaru, Fukuyama, & Mima, 2015; Nojima, Koganemaru, & Mima, 2016; Oliviero et al., 2011; Sheffield et al., 2019). A pesar de ello, en el presente trabajo no se muestran resultados estadísticamente significativos que apoyen dicho efecto inhibitorio sobre M1 al aplicar los CME sobre la CPFDL.

Técnicamente, si comparamos los CME con técnicas descritas mayormente como inhibitorias, que aplican o inducen corrientes eléctricas en el cerebro como la ETCD catódica (Ehlis et al. 2016), la EMTr de baja frecuencia (Rossini et al., 2015), o la cTBS (Huang et al., 2005), los CME parecen tener ventajas como el bajo coste, la portabilidad, la comodidad y la facilidad en su aplicación. Es por estas ventajas que los CME suponen un avance importante en el campo de la neuromodulación. De todos modos, se debe tener en cuenta que en todas estas técnicas se han descrito bastantes diferencias interindividuales y efectos que pueden variar en función de la intensidad y duración de la estimulación (Kuo & Nitsche, 2015). De esta manera se crea la necesidad de consenso en cuanto a los parámetros de aplicación de dichas técnicas para poder aunar los efectos de las mismas, permitir su comparación y facilitar la futura elección de tratamiento en el ámbito clínico.

Es por esta disparidad que en el presente estudio hay varias cuestiones que podrían estar influyendo en dichos resultados, como puede ser el tiempo de aplicación de los CME. Se ha considerado que la aplicación de los CME durante 15 minutos debería ser suficiente para generar cambios en la excitabilidad cortical, puesto que Oliviero et al. (2011) demostraron que

con 10 minutos de estimulación ya se mostraban efectos significativos. A pesar de ello, como hasta la actualidad no hay suficiente literatura sobre dicha aplicación en la CPFDL, podría ser que en el presente experimento el tiempo de aplicación fuese insuficiente para poder generar cambios en la excitabilidad cortical de M1. La ventana temporal de evaluación la creemos suficiente, ya que hay evidencia de que los cambios producidos en la excitabilidad (en el supuesto de que se obtengan) deberían apreciarse hasta tres minutos después de la estimulación (Oliviero et al., 2015; Oliviero et al., 2011). También debería tenerse en cuenta que, independientemente del tiempo de aplicación, posiblemente podrían ser necesarias varias sesiones sucesivas de estimulación, no distantes temporalmente entre ellas, para poder apreciar dicho efecto. Ello se debe a que es conocido que el efecto de las TECNI en general aumenta cuando las mismas se administran de manera repetida en el tiempo, lo cual es el punto clave para entender dichas TECNI como agentes terapéuticos (Chen et al., 2008; Pommier et al., 2018).

En relación a la excitabilidad corticoespinal (representada por los resultados en el primer PEM), no se han obtenido resultados significativos producto de la estimulación de la CPFDL. Esto difiere de los resultados (a nivel local en otras áreas) obtenidos por Kirimoto et al. (2014), Nojima et al. (2015) y Oliviero et al. (2011) que afirman que los CME aplicados en M1 modifican la excitabilidad corticoespinal. Por dicho motivo no podemos afirmar que la estimulación sobre la CPFDL no tenga efectos sobre su excitabilidad, podría tenerlo, pero ser estos insuficientes para inducir cambios distantes en M1, donde hemos evaluado los PEM. Los autores previamente citados, también reportan datos de que los CME pueden alterar los circuitos inhibitorios intracorticales, que se asocian con el ácido gamma-aminobutírico (Ziemann, 2004). También se ha observado un efecto de la aplicación de los CME en áreas ajenas a M1, como en la corteza somatosensorial primaria (Kirimoto et al., 2014), el cerebelo (Matsugi & Okada, 2017) o en el sistema visual humano (Gonzalez-Rosa et al., 2015) o de primates (Aguila et al., 2016). En relación directa con nuestro estudio que evaluó los efectos de los CME a nivel de una posible red funcional, Sheffield et al. (2019) han reportado que aplicando los CME sobre la CPFDL se producen cambios electroencefalográficos significativos en áreas distantes (en áreas occipitales), con lo que nuestra hipótesis de obtener con la estimulación en la CPFDL un efecto sobre M1 parecía posible. Además, cabe destacar la existencia de literatura que respalda la teoría de que la estimulación de la CPFDL modifica de manera directa la excitabilidad de M1. En este caso se trata de la aplicación de TBS, donde la cTBS sobre la CPFDL izquierda aumenta la excitabilidad de M1, y la iTBS la disminuye (Cao et al., 2018). Puesto que en el presente

estudio no se han obtenido efectos similares con la aplicación de CME, creemos necesarios más estudios sobre la aplicación de esta técnica sobre la CPFDL (modificando parámetros de estimulación, como la duración, o evaluación de distintas variables neurofisiológicas) y sus efectos en la excitabilidad cortical de M1.

Por otro lado, en relación a la inhibición intracortical GABA-b dependiente, los resultados muestran que dicha inhibición se vio modificada con el paso del tiempo y que la misma fue aumentando gradualmente independientemente de si la estimulación era real o placebo. Estos resultados podrían verse explicados por el hecho de que los sujetos estuvieron en reposo durante los 15 minutos que recibieron estimulación con CME. Aunque este dato parece paradójico, Todd et al. (2006) reflejaron un aumento de la excitabilidad cortical motora (evaluada con PEM) a partir de que los sujetos permanecieron relajados y sin actividad motora voluntaria de la mano, producto posiblemente de la disminución de las aferencias sensitivas al sistema motor (Todd, Butler, Gandevia, & Taylor, 2006); paralelamente, no observaron cambios en los niveles de excitabilidad GABA-a dependiente o mediada por glutamato. Es posible por tanto, en base a nuestros resultados, que sea la excitabilidad GABA-b (explorada en el presente estudio y no en el previo de Todd, Butler, Gandevia, & Taylor, 2006) un mecanismo compensatorio al incremento de la excitabilidad de poblaciones interneuronales excitadoras tendentes a aumentar su excitabilidad en reposo.

Merece también la pena destacar que los resultados muestran una gran diferencia en las diversas condiciones exploradas entre los tres músculos. Estos datos podrían corroborar y apoyar la correcta metodología del estudio, ya que el músculo objetivo principal del estudio (*hot-spot*) ha sido el PDI. Este hecho se ve respaldado dado que se ha visto un mayor grado de inhibición en el PDI con relación a la excitabilidad intracortical, y de la misma manera se observó una mayor amplitud de los PEM en dicho músculo en relación a la excitabilidad corticoespinal. Ello se debe a que la estimulación se focalizó sobre el área cortical que corresponde con el PDI, reclutando por tanto mayor cantidad de interneuronas inhibitoras (expresadas en una mayor LICI en dicho músculo) y una mayor cantidad de interneuronas excitadoras (expresadas en un mayor tamaño del PEM).

Finalmente, aunque el presente estudio ha evaluado el efecto de la aplicación de los CME en la excitabilidad de M1, el mismo forma parte de un estudio más amplio en el que se pretende abordar el posible efecto de los CME en el comportamiento motor y en último término su

posible aplicación en el tratamiento de la fatiga a nivel clínico. Como hemos indicado anteriormente, aunque la CPFDL está involucrada directamente con la excitabilidad de M1 (Cao et al., 2018), sí algunas pero no todas las expresiones de la fatiga del sistema motor se asocian a cambios en la excitabilidad corticoespinal (Madrid, Madinabeitia-Mancebo, Cudeiro, & Arias, 2018), por lo que es necesario indagar en los efectos de la aplicación de esta técnica durante la realización de tareas fatigantes.

7. CONCLUSIONES

1ª. En el presente estudio no se observaron efectos significativos en la excitabilidad de M1 izquierda tras la aplicación de los CME sobre la CPFDL ipsilateral.

2ª. Se observó un aumento de la LICI en todos los músculos con el paso del tiempo y con el participante en reposo ambos días de estimulación, lo que sugiere una modulación de la excitabilidad (incremento de la inhibición GABA-b dependiente) por la ausencia de actividad motora.

3ª. Dadas las características de simplicidad y portabilidad de la estimulación con CME, comprender si la misma permite modular la excitabilidad de redes funcionales es de gran relevancia, tanto desde una perspectiva fundamental como potencialmente clínica. Por lo que se puede concluir que son necesarias investigaciones futuras que apoyen o rebatan los presentes resultados.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Aguila, J., Cudeiro, J., & Rivadulla, C. (2016). Effects of Static Magnetic Fields on the Visual Cortex: reversible Visual Deficits and Reduction of Neuronal Activity. *Cereb Cortex*, 26(2), 628-638. doi:10.1093/cercor/bhu228
- Amandusson, A., Flink, R., & Axelson, H. W. (2017). Comparison between adaptive and fixed stimulus paired-pulse transcranial magnetic stimulation (ppTMS) in normal subjects. *Clin Neurophysiol Pract*, 2, 91-97. doi:10.1016/j.cnp.2017.04.001
- Arias, P., Adan-Arcay, L., Puerta-Catoira, B., Madrid, A., & Cudeiro, J. (2017). Transcranial static magnetic field stimulation of M1 reduces corticospinal excitability without

- distorting sensorimotor integration in humans. *Brain Stimul*, 10(2), 340-342. doi:10.1016/j.brs.2017.01.002
- Badgaiyan, R. D., & Posner, M. I. (1997). Time course of cortical activations in implicit and explicit recall. *J Neurosci*, 17(12), 4904-4913.
- Balcavage, W. X., Alvager, T., Swez, J., Goff, C. W., Fox, M. T., Abdullyava, S., & King, M. W. (1996). A mechanism for action of extremely low frequency electromagnetic fields on biological systems. *Biochem Biophys Res Commun*, 222(2), 374-378. doi:10.1006/bbrc.1996.0751
- Barker, A. T., Jalinous, R., & Freeston, I. L. (1985). Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. In *Lancet* (Vol. 1, pp. 1106-1107). England.
- Barr, M. S., Farzan, F., Wing, V. C., George, T. P., Fitzgerald, P. B., & Daskalakis, Z. J. (2011). Repetitive transcranial magnetic stimulation and drug addiction. *Int Rev Psychiatry*, 23(5), 454-466. doi:10.3109/09540261.2011.618827
- Brighina, F., Curatolo, M., Cosentino, G., De Tommaso, M., Battaglia, G., Sarzi-Puttini, P. C., . . . Fierro, B. (2019). Brain Modulation by Electric Currents in Fibromyalgia: A Structured Review on Non-invasive Approach With Transcranial Electrical Stimulation. *Front Hum Neurosci*, 13, 40. doi:10.3389/fnhum.2019.00040
- Brunoni, A. R., Baeken, C., Machado-Vieira, R., Gattaz, W. F., & Vanderhasselt, M. A. (2015). BDNF blood levels after non-invasive brain stimulation interventions in major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis. *World J Biol Psychiatry*, 16(2), 114-122. doi:10.3109/15622975.2014.958101
- Brunoni, A. R., & Vanderhasselt, M. A. (2014). Working memory improvement with non-invasive brain stimulation of the dorsolateral prefrontal cortex: a systematic review and meta-analysis. *Brain Cogn*, 86, 1-9. doi:10.1016/j.bandc.2014.01.008
- Cao, N., Pi, Y., Liu, K., Meng, H., Wang, Y., Zhang, J., . . . Tan, X. (2018). Inhibitory and facilitatory connections from dorsolateral prefrontal to primary motor cortex in healthy humans at rest-An rTMS study. *Neurosci Lett*, 687, 82-87. doi:10.1016/j.neulet.2018.09.032
- Cash, R. F., Ziemann, U., Murray, K., & Thickbroom, G. W. (2010). Late cortical disinhibition in human motor cortex: a triple-pulse transcranial magnetic stimulation study. *J Neurophysiol*, 103(1), 511-518. doi:10.1152/jn.00782.2009
- Caux-Dedeystere, A., Rambour, M., Duhamel, A., Cassim, F., Derambure, P., & Devanne, H. (2014). Task-dependent changes in late inhibitory and disinhibitory actions within the primary motor cortex in humans. *Eur J Neurosci*, 39(9), 1485-1490. doi:10.1111/ejn.12505
- Chen, R., Cros, D., Curra, A., Di Lazzaro, V., Lefaucheur, J. P., Magistris, M. R., . . . Ziemann, U. (2008). The clinical diagnostic utility of transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee. *Clin Neurophysiol*, 119(3), 504-532. doi:10.1016/j.clinph.2007.10.014
- Clarke, P. J., Browning, M., Hammond, G., Notebaert, L., & MacLeod, C. (2014). The causal role of the dorsolateral prefrontal cortex in the modification of attentional bias: evidence from transcranial direct current stimulation. *Biol Psychiatry*, 76(12), 946-952. doi:10.1016/j.biopsych.2014.03.003
- Coles, A. S., Kozak, K., & George, T. P. (2018). A review of brain stimulation methods to treat substance use disorders. *Am J Addict*, 27(2), 71-91. doi:10.1111/ajad.12674
- Coots, A., Shi, R., & Rosen, A. D. (2004). Effect of a 0.5-T static magnetic field on conduction in guinea pig spinal cord. *J Neurol Sci*, 222(1-2), 55-57. doi:10.1016/j.jns.2004.04.010
- d'Alfonso, A. A., van Honk, J., Hermans, E., Postma, A., & de Haan, E. H. (2000). Laterality effects in selective attention to threat after repetitive transcranial magnetic stimulation at the prefrontal cortex in female subjects. *Neurosci Lett*, 280(3), 195-198.

- Dagan, M., Herman, T., Mirelman, A., Giladi, N., & Hausdorff, J. M. (2017). The role of the prefrontal cortex in freezing of gait in Parkinson's disease: insights from a deep repetitive transcranial magnetic stimulation exploratory study. *Exp Brain Res*, 235(8), 2463-2472. doi:10.1007/s00221-017-4981-9
- De Raedt, R., Leyman, L., Baeken, C., Van Schuerbeek, P., Luypaert, R., Vanderhasselt, M. A., & Dannlowski, U. (2010). Neurocognitive effects of HF-rTMS over the dorsolateral prefrontal cortex on the attentional processing of emotional information in healthy women: an event-related fMRI study. *Biol Psychol*, 85(3), 487-495. doi:10.1016/j.biopsycho.2010.09.015
- Devanne, H., Degardin, A., Tyvaert, L., Bocquillon, P., Houdayer, E., Manceaux, A., . . . Cassim, F. (2009). Afferent-induced facilitation of primary motor cortex excitability in the region controlling hand muscles in humans. *Eur J Neurosci*, 30(3), 439-448. doi:10.1111/j.1460-9568.2009.06815.x
- Devanne, H., Lavoie, B. A., & Capaday, C. (1997). Input-output properties and gain changes in the human corticospinal pathway. *Exp Brain Res*, 114(2), 329-338.
- Di Lazzaro, V., Oliviero, A., Profice, P., Insole, A., Mazzone, P., Tonali, P., & Rothwell, J. C. (1998, Sep 30-Oct 04). *Direct recordings of descending volleys after transcranial magnetic and electric motor cortex stimulation in conscious humans*. Paper presented at the International Symposium on Transcranial Magnetic Stimulation, Gottingen, Germany.
- Di Lazzaro, V., Pilato, F., Dileone, M., Ranieri, F., Ricci, V., Profice, P., . . . Ziemann, U. (2006). GABAA receptor subtype specific enhancement of inhibition in human motor cortex. *J Physiol*, 575(Pt 3), 721-726. doi:10.1113/jphysiol.2006.114694
- Di Lazzaro, V., & Rothwell, J. C. (2014). Corticospinal activity evoked and modulated by non-invasive stimulation of the intact human motor cortex. *J Physiol*, 592(19), 4115-4128. doi:10.1113/jphysiol.2014.274316
- Di Lazzaro, V., Ziemann, U., & Lemon, R. N. (2008). State of the art: Physiology of transcranial motor cortex stimulation. *Brain Stimul*, 1(4), 345-362. doi:10.1016/j.brs.2008.07.004
- Dinkelbach, L., Brambilla, M., Manenti, R., & Brem, A. K. (2017). Non-invasive brain stimulation in Parkinson's disease: Exploiting crossroads of cognition and mood. *Neurosci Biobehav Rev*, 75, 407-418. doi:10.1016/j.neubiorev.2017.01.021
- Ehlis, A. C., Haeussinger, F. B., Gastel, A., Fallgatter, A. J., & Plewnia, C. (2016). Task-dependent and polarity-specific effects of prefrontal transcranial direct current stimulation on cortical activation during word fluency. *Neuroimage*, 140, 134-140. doi:10.1016/j.neuroimage.2015.12.047
- Fernandez-Duque, D., Baird, J. A., & Posner, M. I. (2000). Executive attention and metacognitive regulation. *Conscious Cogn*, 9(2 Pt 1), 288-307. doi:10.1006/ccog.2000.0447
- Fertonani, A., & Miniussi, C. (2017). Transcranial Electrical Stimulation: What We Know and Do Not Know About Mechanisms. *Neuroscientist*, 23(2), 109-123. doi:10.1177/1073858416631966
- Gonzalez-Rosa, J. J., Soto-Leon, V., Real, P., Carrasco-Lopez, C., Foffani, G., Strange, B. A., & Oliviero, A. (2015). Static Magnetic Field Stimulation over the Visual Cortex Increases Alpha Oscillations and Slows Visual Search in Humans. *J Neurosci*, 35(24), 9182-9193. doi:10.1523/jneurosci.4232-14.2015
- Groenewegen, H. J., Wright, C. I., & Uylings, H. B. (1997). The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia. *J Psychopharmacol*, 11(2), 99-106. doi:10.1177/026988119701100202
- Groppa, S., Oliviero, A., Eisen, A., Quartarone, A., Cohen, L. G., Mall, V., . . . Siebner, H. R. (2012). A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: report of an

- IFCN committee. *Clin Neurophysiol*, 123(5), 858-882. doi:10.1016/j.clinph.2012.01.010
- Hanajima, R., Furubayashi, T., Iwata, N. K., Shiio, Y., Okabe, S., Kanazawa, I., & Ugawa, Y. (2003). Further evidence to support different mechanisms underlying intracortical inhibition of the motor cortex. *Exp Brain Res*, 151(4), 427-434. doi:10.1007/s00221-003-1455-z
- Hess, C. W., Mills, K. R., & Murray, N. M. (1987). Responses in small hand muscles from magnetic stimulation of the human brain. *J Physiol*, 388, 397-419. doi:10.1113/jphysiol.1987.sp016621
- Hoppner, J., Berger, C., Walter, U., Padberg, F., Buchmann, J., Herwig, U., & Domes, G. (2010). Influence of repetitive transcranial magnetic stimulation on special symptoms in depressed patients. *Restor Neurol Neurosci*, 28(4), 577-586. doi:10.3233/rnn-2010-0557
- Hou, W. H., Wang, T. Y., & Kang, J. H. (2016). The effects of add-on non-invasive brain stimulation in fibromyalgia: a meta-analysis and meta-regression of randomized controlled trials. *Rheumatology (Oxford)*, 55(8), 1507-1517. doi:10.1093/rheumatology/kew205
- Huang, Y. Z., Edwards, M. J., Rounis, E., Bhatia, K. P., & Rothwell, J. C. (2005). Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron*, 45(2), 201-206. doi:10.1016/j.neuron.2004.12.033
- Ilmoniemi, R. J., Virtanen, J., Ruohonen, J., Karhu, J., Aronen, H. J., Naatanen, R., & Katila, T. (1997). Neuronal responses to magnetic stimulation reveal cortical reactivity and connectivity. *Neuroreport*, 8(16), 3537-3540.
- Kelley, N. J., Gallucci, A., Riva, P., Romero Lauro, L. J., & Schmeichel, B. J. (2018). Stimulating Self-Regulation: A Review of Non-invasive Brain Stimulation Studies of Goal-Directed Behavior. *Front Behav Neurosci*, 12, 337. doi:10.3389/fnbeh.2018.00337
- Kirimoto, H., Tamaki, H., Matsumoto, T., Sugawara, K., Suzuki, M., Oyama, M., & Onishi, H. (2014). Effect of transcranial static magnetic field stimulation over the sensorimotor cortex on somatosensory evoked potentials in humans. *Brain Stimul*, 7(6), 836-840. doi:10.1016/j.brs.2014.09.016
- Kujirai, T., Caramia, M. D., Rothwell, J. C., Day, B. L., Thompson, P. D., Ferbert, A., . . . Marsden, C. D. (1993). Corticocortical inhibition in human motor cortex. *J Physiol*, 471, 501-519. doi:10.1113/jphysiol.1993.sp019912
- Kuo, M. F., & Nitsche, M. A. (2015). Exploring prefrontal cortex functions in healthy humans by transcranial electrical stimulation. *Neurosci Bull*, 31(2), 198-206. doi:10.1007/s12264-014-1501-9
- Lattari, E., Costa, S. S., Campos, C., de Oliveira, A. J., Machado, S., & Maranhao Neto, G. A. (2017). Can transcranial direct current stimulation on the dorsolateral prefrontal cortex improves balance and functional mobility in Parkinson's disease? *Neurosci Lett*, 636, 165-169. doi:10.1016/j.neulet.2016.11.019
- Lefaucheur, J. P., Andre-Obadia, N., Antal, A., Ayache, S. S., Baeken, C., Benninger, D. H., . . . Garcia-Larrea, L. (2014). Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). *Clin Neurophysiol*, 125(11), 2150-2206. doi:10.1016/j.clinph.2014.05.021
- Lefaucheur, J. P., Chalah, M. A., Mhalla, A., Palm, U., Ayache, S. S., & Mylius, V. (2017). The treatment of fatigue by non-invasive brain stimulation. *Neurophysiol Clin*, 47(2), 173-184. doi:10.1016/j.neucli.2017.03.003
- Leon-Sarmiento, F. E., Granadillo, E., & Bayona, E. A. (2013). [Present and future of the transcranial magnetic stimulation]. *Invest Clin*, 54(1), 74-89.

- Maccabee, P. J., Amassian, V. E., Eberle, L. P., & Cracco, R. Q. (1993). Magnetic coil stimulation of straight and bent amphibian and mammalian peripheral nerve in vitro: locus of excitation. *J Physiol*, *460*, 201-219. doi:10.1113/jphysiol.1993.sp019467
- Madrid, A., Madinabeitia-Mancebo, E., Cudeiro, J., & Arias, P. (2018). Effects of a Finger Tapping Fatiguing Task on M1-Intracortical Inhibition and Central Drive to the Muscle. *Sci Rep*, *8*(1), 9326. doi:10.1038/s41598-018-27691-9
- Matsugi, A., & Okada, Y. (2017). Cerebellar transcranial static magnetic field stimulation transiently reduces cerebellar brain inhibition. *Funct Neurol*, *32*(2), 77-82.
- McDonnell, M. N., Orekhov, Y., & Ziemann, U. (2006). The role of GABA(B) receptors in intracortical inhibition in the human motor cortex. *Exp Brain Res*, *173*(1), 86-93. doi:10.1007/s00221-006-0365-2
- Mondino, M., Thiffault, F., & Fecteau, S. (2015). Does non-invasive brain stimulation applied over the dorsolateral prefrontal cortex non-specifically influence mood and emotional processing in healthy individuals? *Front Cell Neurosci*, *9*, 399. doi:10.3389/fncel.2015.00399
- Morris, R. G., Ahmed, S., Syed, G. M., & Toone, B. K. (1993). Neural correlates of planning ability: frontal lobe activation during the Tower of London test. *Neuropsychologia*, *31*(12), 1367-1378.
- Muller-Dahlhaus, J. F., Orekhov, Y., Liu, Y., & Ziemann, U. (2008). Interindividual variability and age-dependency of motor cortical plasticity induced by paired associative stimulation. *Exp Brain Res*, *187*(3), 467-475. doi:10.1007/s00221-008-1319-7
- Nakagawa, K., Sasaki, A., & Nakazawa, K. (2019). Accuracy in Pinch Force Control Can Be Altered by Static Magnetic Field Stimulation Over the Primary Motor Cortex. *Neuromodulation*. doi:10.1111/ner.12912
- Nakamura, H., Kitagawa, H., Kawaguchi, Y., & Tsuji, H. (1997). Intracortical facilitation and inhibition after transcranial magnetic stimulation in conscious humans. *J Physiol*, *498* (Pt 3), 817-823. doi:10.1113/jphysiol.1997.sp021905
- Nojima, I., Koganemaru, S., Fukuyama, H., & Mima, T. (2015). Static magnetic field can transiently alter the human intracortical inhibitory system. *Clin Neurophysiol*, *126*(12), 2314-2319. doi:10.1016/j.clinph.2015.01.030
- Nojima, I., Koganemaru, S., & Mima, T. (2016). Combination of Static Magnetic Fields and Peripheral Nerve Stimulation Can Alter Focal Cortical Excitability. *Front Hum Neurosci*, *10*, 598. doi:10.3389/fnhum.2016.00598
- Obeso, J. A., Rodriguez-Oroz, M. C., Benitez-Temino, B., Blesa, F. J., Guridi, J., Marin, C., & Rodriguez, M. (2008). Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease. *Mov Disord*, *23* Suppl 3, S548-559. doi:10.1002/mds.22062
- Oliviero, A., Carrasco-Lopez, M. C., Campolo, M., Perez-Borrogo, Y. A., Soto-Leon, V., Gonzalez-Rosa, J. J., . . . Foffani, G. (2015). Safety Study of Transcranial Static Magnetic Field Stimulation (tSMS) of the Human Cortex. *Brain Stimul*, *8*(3), 481-485. doi:10.1016/j.brs.2014.12.002
- Oliviero, A., Mordillo-Mateos, L., Arias, P., Panyavin, I., Foffani, G., & Aguilar, J. (2011). Transcranial static magnetic field stimulation of the human motor cortex. *J Physiol*, *589*(Pt 20), 4949-4958. doi:10.1113/jphysiol.2011.211953
- Paulus, W. (2011). Transcranial electrical stimulation (tES - tDCS; tRNS, tACS) methods. *Neuropsychol Rehabil*, *21*(5), 602-617. doi:10.1080/09602011.2011.557292
- Peng, K., Steele, S. C., Becerra, L., & Borsook, D. (2018). Brodmann area 10: Collating, integrating and high level processing of nociception and pain. *Prog Neurobiol*, *161*, 1-22. doi:10.1016/j.pneurobio.2017.11.004

- Pommier, B., Quesada, C., Fauchon, C., Nuti, C., Vassal, F., & Peyron, R. (2018). Added value of multiple versus single sessions of repetitive transcranial magnetic stimulation in predicting motor cortex stimulation efficacy for refractory neuropathic pain. *J Neurosurg*, 1-12. doi:10.3171/2017.12.jns171333
- Pommier, B., Vassal, F., Boutet, C., Jeannin, S., Peyron, R., & Faillenot, I. (2017). Easy methods to make the neuronavigated targeting of DLPFC accurate and routinely accessible for rTMS. *Neurophysiol Clin*, 47(1), 35-46. doi:10.1016/j.neucli.2017.01.007
- Price, A. R., McAdams, H., Grossman, M., & Hamilton, R. H. (2015). A Meta-analysis of Transcranial Direct Current Stimulation Studies Examining the Reliability of Effects on Language Measures. *Brain Stimul*, 8(6), 1093-1100. doi:10.1016/j.brs.2015.06.013
- Ridding, M. C., & Rothwell, J. C. (1995). Reorganisation in human motor cortex. *Can J Physiol Pharmacol*, 73(2), 218-222.
- Rosen, A. D. (2003). Mechanism of action of moderate-intensity static magnetic fields on biological systems. *Cell Biochem Biophys*, 39(2), 163-173. doi:10.1385/cbb:39:2:163
- Roshan, L., Paradiso, G. O., & Chen, R. (2003). Two phases of short-interval intracortical inhibition. *Exp Brain Res*, 151(3), 330-337. doi:10.1007/s00221-003-1502-9
- Rossini, P. M., Barker, A. T., Berardelli, A., Caramia, M. D., Caruso, G., Cracco, R. Q., . . . et al. (1994). 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. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 91(2), 79-92.
- Rossini, P. M., Berardelli, A., Deuschl, G., Hallett, M., Maertens de Noordhout, A. M., Paulus, W., & Pauri, F. (1999). Applications of magnetic cortical stimulation. The International Federation of Clinical Neurophysiology. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl*, 52, 171-185.
- Rossini, P. M., Burke, D., Chen, R., Cohen, L. G., Daskalakis, Z., Di Iorio, R., . . . Ziemann, U. (2015). Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: Basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee. *Clin Neurophysiol*, 126(6), 1071-1107. doi:10.1016/j.clinph.2015.02.001
- Rossini, P. M., & Caramia, M. D. (1992). Central conduction studies and magnetic stimulation. *Curr Opin Neurol Neurosurg*, 5(5), 697-703.
- Sagliano, L., Atripaldi, D., De Vita, D., D'Olimpio, F., & Trojano, L. (2019). Non-invasive brain stimulation in generalized anxiety disorder: A systematic review. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 93, 31-38. doi:10.1016/j.pnpbp.2019.03.002
- Sanger, T. D., Garg, R. R., & Chen, R. (2001). Interactions between two different inhibitory systems in the human motor cortex. *J Physiol*, 530(Pt 2), 307-317. doi:10.1111/j.1469-7793.2001.03071.x
- Schiffer, F., Stinchfield, Z., & Pascual-Leone, A. (2002). Prediction of clinical response to transcranial magnetic stimulation for depression by baseline lateral visual-field stimulation. *Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol*, 15(1), 18-27.
- Schulz, R., Gerloff, C., & Hummel, F. C. (2013). Non-invasive brain stimulation in neurological diseases. *Neuropharmacology*, 64, 579-587. doi:10.1016/j.neuropharm.2012.05.016
- Sheffield, A., Ahn, S., Alagapan, S., & Frohlich, F. (2019). Modulating neural oscillations by transcranial static magnetic field stimulation of the dorsolateral prefrontal cortex: A crossover, double-blind, sham-controlled pilot study. *Eur J Neurosci*, 49(2), 250-262. doi:10.1111/ejn.14232
- Silbert, B. I., Pevcic, D. D., Patterson, H. I., Windnagel, K. A., & Thickbroom, G. W. (2013). Inverse correlation between resting motor threshold and corticomotor excitability after

- static magnetic stimulation of human motor cortex. *Brain Stimul*, 6(5), 817-820. doi:10.1016/j.brs.2013.03.007
- Song, S., Zilverstand, A., Gui, W., Li, H. J., & Zhou, X. (2019). Effects of single-session versus multi-session non-invasive brain stimulation on craving and consumption in individuals with drug addiction, eating disorders or obesity: A meta-analysis. *Brain Stimul*, 12(3), 606-618. doi:10.1016/j.brs.2018.12.975
- Strafella, A. P., Paus, T., Barrett, J., & Dagher, A. (2001). Repetitive transcranial magnetic stimulation of the human prefrontal cortex induces dopamine release in the caudate nucleus. *J Neurosci*, 21(15), RC157.
- Stuss, D. T., & Levine, B. (2002). Adult clinical neuropsychology: lessons from studies of the frontal lobes. *Annu Rev Psychol*, 53, 401-433. doi:10.1146/annurev.psych.53.100901.135220
- Todd, G., Butler, J. E., Gandevia, S. C., & Taylor, J. L. (2006). Decreased input to the motor cortex increases motor cortical excitability. *Clin Neurophysiol*, 117(11), 2496-2503. doi:10.1016/j.clinph.2006.07.303
- Tremblay, S., Lepage, J. F., Latulipe-Loiselle, A., Fregni, F., Pascual-Leone, A., & Theoret, H. (2014). The uncertain outcome of prefrontal tDCS. *Brain Stimul*, 7(6), 773-783. doi:10.1016/j.brs.2014.10.003
- Valls-Sole, J., Pascual-Leone, A., Wassermann, E. M., & Hallett, M. (1992). Human motor evoked responses to paired transcranial magnetic stimuli. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 85(6), 355-364.
- Vanderhasselt, M. A., De Raedt, R., Leyman, L., & Baeken, C. (2010). Role of the left DLPFC in endogenous task preparation: experimental repetitive transcranial magnetic stimulation study. *Neuropsychobiology*, 61(3), 162-168. doi:10.1159/000285781
- Viejo-Sobera, R., Redolar-Ripoll, D., Boixados, M., Palaus, M., Valero-Cabre, A., & Marron, E. M. (2017). Impact of Prefrontal Theta Burst Stimulation on Clinical Neuropsychological Tasks. *Front Neurosci*, 11, 462. doi:10.3389/fnins.2017.00462
- Wassermann, E. M., Samii, A., Mercuri, B., Ikoma, K., Oddo, D., Grill, S. E., & Hallett, M. (1996). Responses to paired transcranial magnetic stimuli in resting, active, and recently activated muscles. *Exp Brain Res*, 109(1), 158-163.
- Werhahn, K. J., Kunesch, E., Noachtar, S., Benecke, R., & Classen, J. (1999). Differential effects on motorcortical inhibition induced by blockade of GABA uptake in humans. *J Physiol*, 517 (Pt 2), 591-597. doi:10.1111/j.1469-7793.1999.0591t.x
- Ziemann, U. (2004). TMS induced plasticity in human cortex. *Rev Neurosci*, 15(4), 253-266.
- Ziemann, U. (2013). Pharmaco-transcranial magnetic stimulation studies of motor excitability. *Handb Clin Neurol*, 116, 387-397. doi:10.1016/b978-0-444-53497-2.00032-2
- Ziemann, U., Paulus, W., Nitsche, M. A., Pascual-Leone, A., Byblow, W. D., Berardelli, A., . . . Rothwell, J. C. (2008). Consensus: Motor cortex plasticity protocols. *Brain Stimul*, 1(3), 164-182. doi:10.1016/j.brs.2008.06.006
- Ziemann, U., & Rothwell, J. C. (2000). I-waves in motor cortex. *J Clin Neurophysiol*, 17(4), 397-405.
- Ziemann, U., Rothwell, J. C., & Ridding, M. C. (1996). Interaction between intracortical inhibition and facilitation in human motor cortex. *J Physiol*, 496 (Pt 3), 873-881. doi:10.1113/jphysiol.1996.sp021734