



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA – IZTAPALAPA
División de Ciencias Básicas e Ingeniería
Posgrado en Ingeniería Biomédica

**EFFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN MAGNÉTICA
TRANSCRANEAL DE BAJA FRECUENCIA APLICADA
A LA CORTEZA PREFRONTAL EN SUJETOS CON
DEPENDENCIA MODERADA A LA NICOTINA**

Tesis que presenta
Ing. Miguel Flores Leal
Para obtener el grado de
Maestro en Ciencias (Ingeniería Biomédica)

Asesor: Dr. Emilio Sacristán Rock

Jurado calificador:

Presidenta: Dra. Verónica Medina Bañuelos UAM-I

Secretario: Dr. Emilio Sacristán Rock UAM-I

Vocal: Dr. Daniel San Juan Orta INNN

México, D.F. a 14 de octubre de 2014

*A todos aquellos que activan mis neuronas dopaminérgicas
sin la necesidad de utilizar un campo magnético pulsátil.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera especial a mi asesor el Dr. Emilio Sacristán Rock, por confiar desde un principio en mi proyecto y otorgarme todas las facilidades para poder llevarlo a cabo, aunado a su guía académica y entusiasmo siempre contagioso.

A todo el equipo de profesionales y estudiantes del CI3M por proporcionarme todo el apoyo, tiempo y confianza para llevar a cabo los experimentos a lo largo de los últimos meses. Al Dr. Joaquín Azpiroz Leehan y al Dr. Luis Jiménez Ángeles por guiarme desde el comienzo de este proyecto y brindarme su apoyo a lo largo de todo su desarrollo. Al Dr. Jorge L. Armony por su asesoría en el procesamiento de las imágenes funcionales y a la Dra. Anabel Jiménez Anguiano por su tiempo y colaboración al haber participado en mi experimento.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada a mi persona a lo largo de mis estudios de maestría, necesarios para afrontar el día a día de esta etapa académica.

A mi familia por su amor y apoyo incondicional a lo largo de mi vida. Su ejemplo y valores me han permitido ser la persona que soy hoy. Para mí no hay palabras de agradecimiento que puedan superar lo que siempre les he podido decir a través de mis acciones.

A Dámaris, por lograr hacer de estos años de posgrado los más felices de mi vida, obligándome siempre a dar lo mejor de mí y complementándome en todo momento con sus virtudes y defectos.

A mis amigos de Orizaba y Puebla por acompañarme siempre en esta ciudad y compartir sus éxitos y alegrías a lo largo de estos dos años. A mis compañeros de laboratorio, ahora mis amigos, por el excelente ambiente de trabajo y convivencia a lo largo de todo un año.

ÍNDICE

DEDICATORIA	1
AGRADECIMIENTOS.....	2
ÍNDICE	3
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS	5
RESUMEN.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1 Estimulación Magnética Transcraneal	10
1.1.1 Principio de funcionamiento	11
1.1.2 Variables principales de la EMT	12
1.1.3 Umbral motor	15
1.1.4 Efecto neuromodulador.....	16
1.1.5 Bases fisiológicas de la EMT	17
1.1.6 Consideraciones de seguridad.....	18
1.2 Adicción.....	19
1.2.1 Circuito neuronal de la adicción	19
1.2.2 EMT y adicciones.....	21
1.3 Resonancia Magnética Nuclear	23
1.3.1 Resonancia Magnética Funcional	27
1.3.4 EMT y fMRI.....	31
2 HIPÓTESIS	33
2.1 Hipótesis particulares:	33
3 OBJETIVO.....	34
3.1 Objetivos particulares:	34
4 METODOLOGÍA.....	35
4.1 Participantes.....	35
4.1 Diseño del experimento	36
4.2 Tratamiento de EMT	37
4.3.1 Determinación del Umbral Motor	38

4.3.2	Pretratamiento de Priming	39
4.3.3	Estimulación	39
4.4.	Protocolo de fMRI	41
4.4.1	Parámetros de adquisición.....	41
4.4.2	Presentación de estímulos.....	41
4.4.3	Análisis de las imágenes	43
4.4.3.1	Pre-procesamiento:.....	43
4.4.3.2	Análisis de primer nivel:	43
4.4.3.3	Análisis de segundo nivel:.....	47
4.4.4	Resumen del método de análisis de las imágenes.....	52
4.4.5	Evaluaciones Visuales Análogas	54
4.4.6	Consumo de cigarrillos	55
5	RESULTADOS	56
5.1	Análisis de primer nivel:.....	56
5.2	Análisis de segundo nivel:	57
5.3	Resumen de resultados y su significancia	66
5.4	Evaluaciones Visuales Análogas	67
5.5	Consumo de cigarrillos	69
6	DISCUSIÓN.....	70
7	CONCLUSIÓN.....	74
8	PERSPECTIVAS	75
9	ABREVIATURAS	76
10	GLOSARIO.....	77
11	BIBLIOGRAFÍA.....	78
12	ANEXOS.....	84
	Anexo I Test de Fagérstrom	84
	Anexo II Responsiva.....	85
	Anexo III Escala Visual Analógica	86
	Anexo IV Tablas de activaciones	87

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1 Principio de funcionamiento de la EMT	10
Figura 2 Diagrama del circuito típico de EMT y sus respectivas mediciones.....	11
Figura 3 Ejemplos de trenes de pulso comúnmente utilizados en la EMT	13
Figura 4 Distribución de los campos eléctricos inducidos por una bobina de EMT.....	14
Figura 5 Esquema del posible circuito neurológico de una adicción.....	20
Figura 6 Representación clásica de los momentos magnéticos de los núcleos.....	24
Figura 7 Momento angular del protón	25
Figura 8 Curvas exponenciales representativas de cada fenómeno	26
Figura 9 Función de Respuesta Hemodinámica característica.....	28
Figura 10 La respuesta hemodinámica y la señal BOLD.....	29
Figura 11 Diseño de bloque alternantes.....	30
Figura 12 Esquemático de las tareas realizadas a lo largo del experimento	37
Figura 13 Captura de pantalla de la suite F3 y localización de la DLPFC izquierda.	39
Figura 14 Posicionamiento de la bobina de estimulación.....	40
Figura 15 Esquemático del paradigma de bloques utilizado.....	42
Figura 16 Matriz de diseño para el análisis de cada sujeto	44
Figura 17 Matriz y contraste análisis de primer nivel (n=10)	45
Figura 18 Análisis de 2° Nivel Sham (n=10).....	48
Figura 19 Análisis de 2° Nivel de la sesión Activa (n=10)	49
Figura 20 Matriz de diseño y contraste utilizado en el análisis de 2° Nivel	50
Figura 21 Matriz de análisis de 2° y contraste utilizado para prueba T pareada.....	51
Figura 22 Resumen metodológico de los distintos niveles de análisis de las imágenes...	53

Figura 23 Activaciones en un análisis de 1° Nivel Active>Sham (n=10).....	57
Figura 24 Activaciones en un análisis de 2° Nivel Sham (n=10).....	58
Figura 25 Render con activaciones positivas del análisis de 2° N Sesión Activa.....	59
Figura 26 Activaciones en un análisis de 2° Nivel de la sesión Activa (n=10)	60
Figura 27 Matriz de diseño y activaciones en un análisis de 2° Nivel efectos globales ...	61
Figura 28 Matriz y activaciones en análisis de segundo nivel (n=10)	63
Figura 29 Vistas seccionales con las activaciones más significativas	65
Figura 30 Interpretación de resultados del análisis de imágenes de 1° y 2° Nivel.....	66
Figura 31 Puntaje de “deseo por fumar” auto-reportado a lo largo del estudio.....	67
Figura 32 Variación de los puntajes de estado de ánimo auto-reportados	68
Figura 33 Hábitos de consumo de los fumadores a lo largo del experimento.....	69
.....	
Tabla 1 Parámetros principales de la EMT.	15
Tabla 2 Máxima duración de las series de estimulación.	18
Tabla 3 Estudios que examinaron la EMTr como tratamiento para la adicción	22
Tabla 4 Registro de potencia de salida del equipo necesaria para determinar el U.M.....	38
Tabla 5 Lista de clústers de activación en el análisis ACTIVA>SHAM	64
Tabla 6 Lista completa de clusters de activación en el de 1° Nivel Efecto est.(n=20).....	87
Tabla 7 Lista completa de activaciones en el análisis de 2° Nivel Sesión ACTIVA (n=10)	88
Tabla 8 Lista completa de activaciones en el análisis de 2° Nivel Sesión SHAM (n=10) .	89
Tabla 9 Lista completa de activaciones en el análisis de 2° Nivel efecto global (n=20)	90

RESUMEN

Panorama: Estudios recientes sugieren que en algunos pacientes dependientes de la nicotina, la Estimulación Magnética Transcraneal repetitiva (EMTr) tiene el potencial de reducir de manera significativa el deseo por fumar y el número de cigarrillos fumados.

Objetivo: En este trabajo se evaluó el cambio en la actividad cerebral causado por una sesión de EMTr de baja frecuencia pre tratada con una rutina de priming aplicada sobre la corteza dorsolateral prefrontal izquierda en respuesta a estímulos visuales relacionados con el tabaco durante un periodo temporal de abstinencia.

Material y método: Diez sujetos con una dependencia moderada a la nicotina participaron en un experimento con un diseño cruzado, comparando una sola sesión de estimulación contra su respectivo control. Seguido del tratamiento, los participantes entraron a un escáner de resonancia magnética para la adquisición de imágenes funcionales mediante el uso de un paradigma visual de bloques con estímulos relacionados con fumar. Otras mediciones resultantes incluyeron una puntuación de deseo por fumar auto-reportado a través de un test de escalas visuales analógicas aplicado antes y después de cada sesión de estimulación así como el registro del número de cigarrillos fumados en el periodo de una semana alrededor de cada sesión.

Resultados: El deseo por fumar reportado fue menor después de una sesión de estimulación activa, se encontró activación significativa en áreas asociadas con el control emocional (cíngulo anterior y área subgenual) y memoria episódica (giro cingular posterior y precúneo) como resultado de la estimulación. No hubo diferencia significativa en el número de cigarrillos fumados entre la condición activa de estimulación y control durante el periodo de seguimiento de una semana.

Conclusión: Este estudio confirma la evidencia previa de que una sola sesión de EMTr puede reducir el deseo por fumar y proporciona evidencia del mecanismo de acción neuronal subyacente para lograr estos efectos neuromoduladores.

1. INTRODUCCIÓN

Dentro del panorama actual del tabaquismo en México, el 16% de la población (once millones de personas) son fumadores vigentes, de los cuales el 73% son hombres y el 27% mujeres. En promedio un fumador en México consume 9 cigarrillos por día, sin embargo el 72% de los fumadores actuales desea dejar de fumar pero sólo el 11% tiene éxito [1].

Es esta problemática la que ha motivado a que juntos, sociedad y gobierno, desarrollen programas y estudios dirigidos a luchar en contra del tabaquismo, que hoy en día representa uno de los principales problemas de salud en nuestro país. De entre estos esfuerzos destacan nuevas técnicas y tratamientos encaminados a disminuir la necesidad de fumar y la dependencia a los activos del tabaco.

Una de estas nuevas técnicas que ha demostrado resultados prometedores es la Estimulación Magnética Transcraneal (EMT), una de las herramientas recientemente incorporadas al estudio de las neurociencias. Esta técnica permite estimular de manera no invasiva el tejido de la corteza cerebral y permite interferir con la actividad normal del cerebro permitiendo ayudar a controlar la adicción al tabaco. La ventaja de este tipo de técnicas radica no sólo en su facilidad de aplicación sino también en el hecho de que no se utiliza ningún tipo de fármaco o sustancia que actúe como sustituto de la nicotina para disminuir los efectos de la abstinencia a la droga.

La neuromodulación por EMT es una técnica relativamente nueva, fue en 1984 cuando Anthony Baker y sus colaboradores lograron desarrollar un estimulador capaz de despolarizar neuronas en la corteza cerebral y evocar movimientos contralaterales al activar las vías corticoespinales. Desde entonces el campo de estudio de la EMT y sus efectos se han diversificado y hoy en día existen técnicas encaminadas a entender y combatir las adicciones.

Dentro del gran número de estudios que involucran la EMT y el efecto que ésta tiene sobre el comportamiento de las personas destacan algunas dirigidas a entender y

modular las conductas alteradas propias de algunos desórdenes alimenticios, trastornos obsesivos compulsivos y adicciones a alguna droga. En pacientes dependientes a la nicotina se ha reportado la reducción de consumo de tabaco después de una sesión de Estimulación Magnética Transcráneaal repetitiva (EMTr) de alta frecuencia aplicada a la corteza dorsolateral prefrontal (DLPF) izquierda en comparación con una estimulación simulada o sham [2].

De manera similar se han realizado estudios en pacientes con sobrepeso encontrando que el incremento esperado del deseo por comer después de ser expuestos a la comida era suprimido por la EMTr y no así por la estimulación simulada [3]. Si bien se ha observado que la estimulación de una zona específica de la corteza puede tener efectos bi-hemisféricos aún no se ha podido determinar la diferencia de sus efectos en un nivel cognitivo de corto plazo [4].

Más allá de los cambios en estado de ánimo y conducta que pueda reportar un paciente luego de una sesión de EMT, resulta necesario medir sus efectos de una forma menos subjetiva para poder evaluar el verdadero impacto que la técnica tiene a nivel de la corteza cerebral y su efecto como neuromodulador.

La colaboración de técnicas de neuroimagen puede ayudar al conocimiento y medición de las áreas totales afectadas por la estimulación. El combinar la EMT con imagenología (PET o fMRI) permite directamente estimular circuitos neuronales para luego poder observar los cambios resultantes de una manera más clara y objetiva, logrando así establecer relaciones funcionales entre distintas áreas del cerebro que trabajan en conjunto para conformar una respuesta característica ante ciertos estímulos [5]. Estas relaciones entre áreas específicas del cerebro involucradas en la generación del deseo, las conductas propias de una adicción y el efecto disruptivo que la EMTr tiene sobre estos circuitos neuronales permanecen aún sin ser completamente esclarecidos.

En términos generales, la técnica de EMT se considera segura y no produce efectos secundarios considerables. No se han reportado efectos neurológicos, cognitivos o secuelas duraderas. Sin embargo, la EMT puede alterar la función normal del cerebro y es una tecnología relativamente nueva por lo que la vigilancia en todo momento es requerida y deben seguirse los protocolos establecidos para garantizar la seguridad de los pacientes [6].

1.1 Estimulación Magnética Transcraneal

La EMT se basa en el principio de inducción electromagnética descrito por Michael Faraday en 1838. Cuando aplicamos EMT, una corriente eléctrica pasa a través de una bobina de estimulación situada sobre el cuero cabelludo; si ésta tiene la suficiente fuerza y precisa duración, rápidamente se generan campos magnéticos que penetran en el cuero cabelludo, cráneo y meninges, y alcanzan el cerebro con una atenuación insignificante.

Estos campos inducen una corriente eléctrica en el tejido neural, cuyo volumen depende de la forma y tamaño de la bobina de estimulación, de la intensidad del campo magnético (ver fig. 1) y de la frecuencia y la duración de los pulsos magnéticos producidos [7].

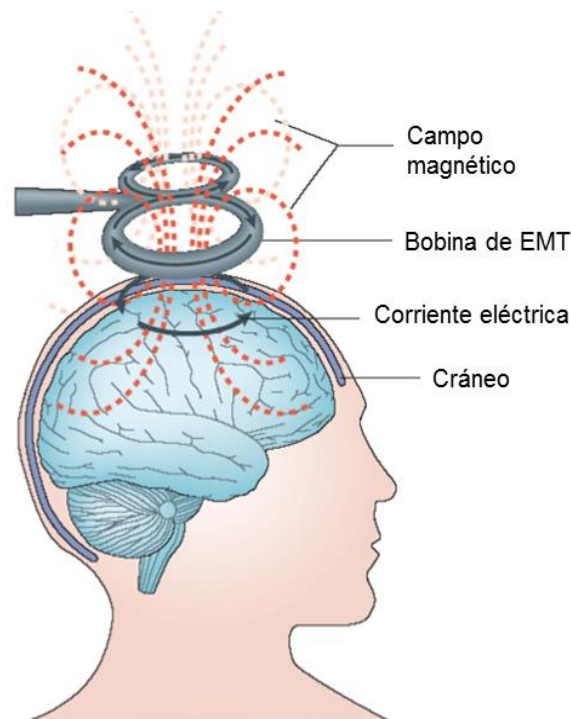


Figura 1 Principio de funcionamiento de la EMT

Ilustración que muestra el proceso de inducción de corriente eléctrica en el cerebro (flechas negras) a través de pulsos magnéticos (líneas rojas) aplicadas mediante una bobina en forma de 8 posicionada sobre la cabeza. Tomada y adaptada de Ridding y Rothwell (2007).

1.1.1 Principio de funcionamiento

Las neuronas pueden ser excitadas por estos campos magnéticos externos que varían a través del tiempo. En la EMT, la excitación es alcanzada al dirigir pulsos intensos de corriente $I(t)$ a través de la bobina de estimulación. La fuente de activación es el campo eléctrico E inducido en el tejido, obtenido de la Ley de Faraday:

$$\nabla \times \mathbf{E} = \frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} \quad (1)$$

Donde B es el campo magnético producido por la bobina, dada por la ley de Biot-Savart:

$$\mathbf{B}(\mathbf{r}, t) = \frac{\mu_0}{4\pi} I(t) \oint_C \frac{d\mathbf{l}(\mathbf{r}') \times (\mathbf{r} - \mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|^3} \quad (2)$$

La integración se realiza con el vector $d\mathbf{l}$ junto con los giros de la bobina C y la permeabilidad del espacio libre $\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7}$ H/m.

Los pulsos de corriente que son generados con el circuito que contiene un capacitor conectado a la bobina en serie con un tiristor. Con el capacitor previamente cargado a 2-3 kV, la apertura del tiristor al paso de corriente causará que el capacitor se descargue a través de la bobina (véase Fig.2). La forma de onda de la corriente resultante corresponde a un pulso sinusoidal amortiguado que dura alrededor de 300 μs y tiene un valor pico de 5-10 kA [9].

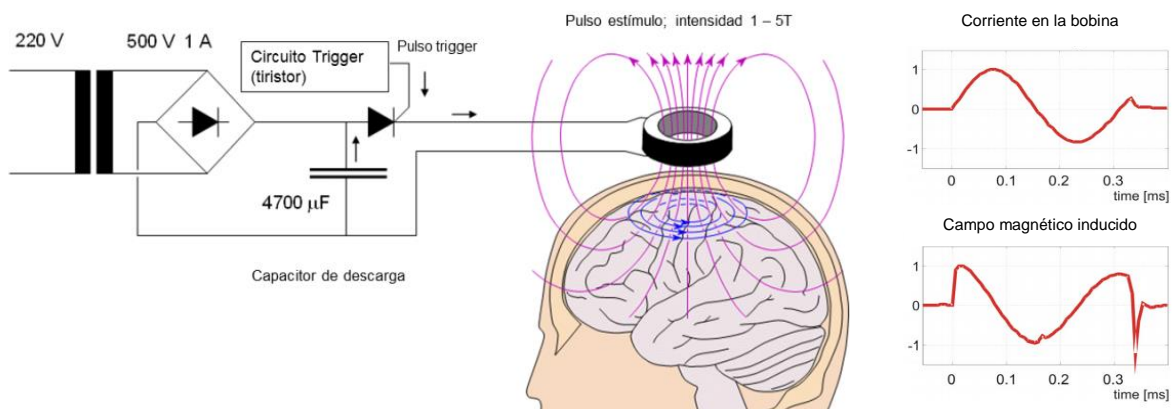


Figura 2 Diagrama del circuito típico de EMT y sus respectivas mediciones de corriente y campo magnético inducido en una bobina de estimulación. Tomada y adaptada de Malmivuo (1995)

1.1.2 Variables principales de la EMT

Una aparato de EMT produce un campo magnético bastante potente (alrededor de 1.5 a 2T) pero únicamente por un periodo muy corto, del orden de milisegundos. Durante la EMT, existen cuatro aspectos fundamentales que deben controlarse al momento de diseñar y llevar a cabo cualquier protocolo de estimulación:

a) Frecuencia

Uno de ellos es la frecuencia de estimulación, podemos hablar de EMT simple, apareada o repetitiva (EMTr). En la EMT simple se produce un pulso de una frecuencia inferior a 1 Hz en un momento y con una duración determinada. Este pulso es capaz de despolarizar neuronas del córtex motor y producir una respuesta en tiempo real (on-line) medible en el músculo contralateral [10].

En la EMTr se aplican trenes de pulsos con una frecuencia de hasta 50 Hz durante decenas, centenas o miles de mili segundos (ver figura 3), por lo que se suele dividir entre EMTr de baja frecuencia y de alta frecuencia [10]. El uso de la EMTr permite la alteración de manera funcional, selectiva y transitoria de las redes neuronales encargadas de diversas funciones cognitivas, generando un efecto diferido (off-line) que pueden durar desde minutos hasta horas [10].

La EMTr de baja frecuencia es aquella que utiliza un pulso por segundo (1Hz) o frecuencias menores a ésta, por lo general provoca un efecto inhibitor temporal de la zona estimulada [11] y ha sido utilizada de manera exitosa en pacientes con esquizofrenia cuyas alucinaciones auditivas fueron disminuidas al aplicarla en zonas relacionadas con el habla [12].

Frecuencias de estimulación mayores a 1 Hz son consideradas de alta frecuencia, en este caso su efecto es opuesto a la baja frecuencia y genera un efecto facilitador de la zona de estimulación. Su eficacia ha sido demostrada en tratamientos dirigidos al control de la depresión [13] y el estrés post-traumático [14].

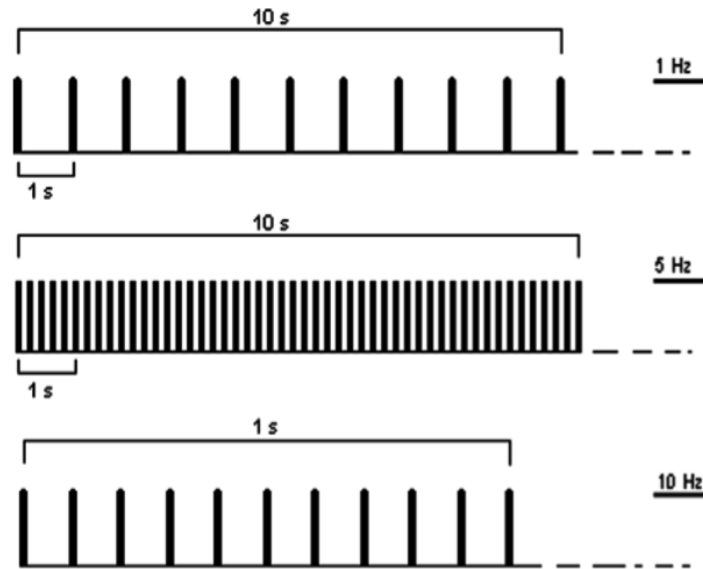


Figura 3 Ejemplos de trenes de pulso comúnmente utilizados en la EMT

Tren de 10 segundos de EMTr a 1Hz (primer trazo) y a 5Hz (segundo trazo); 1 de EMTr A 10 Hz). Figura tomada y adaptada de Rossi et al. (2009).

b) Intensidad

En general con la EMT un pulso más intenso, o más fuerte, se traduce en una mayor área de activación del tejido del sistema nervioso central. Si bien el efecto del campo magnético se limita a las áreas de la corteza cerebral, intensidades de estimulación por encima del umbral motor de la persona han demostrado tener no sólo un efecto local mayor sino también remoto (trans-sináptico) en zonas que se encuentran de cierta forma conectadas con el área estimulada. El efecto de una mayor intensidad del estímulo no sólo se refleja en un aumento de las zonas de activación sino también en la duración éstas [16].

Debido a la variación de paciente a paciente y la diversidad de equipos de EMT que poseen sus propios parámetros de potencia y equipamiento, en una investigación se suele reportar el parámetro de intensidad usada como el porcentaje del umbral motor (véase la sección 1.1.3) de cada individuo en lugar de la potencia propia del equipo.

Es importante mencionar que a mayor intensidad utilizada, mayor será el calentamiento generado en la bobina, por lo que resulta indispensable contar con un equipo de enfriamiento integrado al estimulador que garantice su integridad y funcionamiento dentro de los parámetros de seguridad del fabricante.

c) Tipo de bobina

Hoy en día existen un gran número de bobinas de estimulación cuyo diseño ha sido determinado por las diferentes aplicaciones en el campo creciente de la EMT. En general todas consisten de una o más bobinas de hilo de cobre encapsuladas en un molde plástico. Los dos tipos de bobinas más utilizados son la bobina circular y la de forma de ocho [16].

La bobina de estimulación en forma de ocho produce un campo eléctrico que tiene su máximo bajo la unión de los dos aros, aunque un campo eléctrico menor se encuentre bajo el resto de la superficie de la bobina. Este tipo de bobina tiene la particularidad de poder generar un punto focal de estimulación que permite estimular de manera eficaz una zona específica de la corteza cerebral (véase figura 4b).

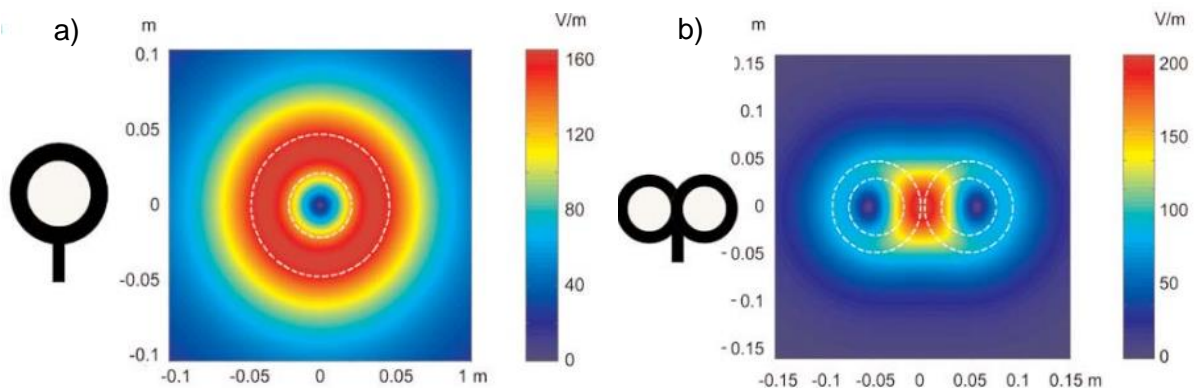


Figura 4 Distribución de los campos eléctricos inducidos por una bobina de estimulación circular (a) y una bobina en forma de 8 (b).

La morfología externa de cada bobina se representa con líneas blancas discontinuas sobre la representación de los campos inducidos. La amplitud del campo eléctrico se calcula para un plano 20 mm por debajo en un modelo realístico de la bobina ($dL/dt = 108 \text{ As}^{-1}$). Figura tomada y adaptada de Leone & Muñoz (2008).[10]

d) Zona de estimulación

Gracias a la EMT se ha podido corroborar y ampliar el entendimiento de las diversas funciones cognitivas propias de cada una de las diferentes zonas de la corteza cerebral. La mayoría de las aplicaciones de la EMT están encaminadas a comprender los efectos que una inhibición temporal de un área cortical tiene sobre la conducta normal de un individuo sano, aunque la capacidad que la EMT tiene de modular la excitabilidad cortical sugiere la posibilidad de ser utilizada en aplicaciones terapéuticas de procesos neuropsiquiátricos asociados con alteraciones de la excitabilidad cortical [16].

Tabla 1 Parámetros principales de la EMT.

Zona de la estimulación	Intensidad del campo magnético producido	Frecuencia de estimulación	Forma y orientación de la bobina de estimulación
Sitio de estimulación (conocimiento teórico, hipótesis respecto a la patología o proceso en estudio)	Porcentaje del umbral motor (80-110%)	= ó < 1 Hz :efecto inhibitorio > 1 Hz: efecto excitatorio o facilitador	En forma de ocho o alas de mariposa

1.1.3 Umbral motor

El umbral motor (MT, por su siglas en inglés) de activación se puede definir como la intensidad mínima necesaria para provocar potenciales evocados motores de más de 50 μV de amplitud pico a pico registrado mediante EMG del músculo Abductor Pollicis Brevis (APB) en al menos el 50% de los pruebas, un método que ha sido denominado "5/10" [17]. Una respuesta similar a este efecto excitatorio de las vías motoras puede ser hallada también en el córtex visual. La EMT aplicada sobre la corteza visual puede producir la

percepción de luces o destellos luminosos en ausencia de estimulación visual denominados fosfenos.

El umbral de movimiento es definido como la intensidad del estímulo mínima capaz de evocar movimientos contralaterales en la mano en al menos 5 de 10 pruebas, definiendo movimiento como aquel que pudiera ser observable en el dedo o la muñeca [18]. La observación del umbral de movimiento (OM,) es un método usado hoy en día para la determinación del umbral motor (MT, por sus siglas en inglés) de una manera relativamente simple. Los resultados de estudios que han evaluado la determinación del MT mediante el uso del OM han verificado la confiabilidad del método y confirman su viabilidad para ser usado en aplicaciones de la EMT [19].

1.1.4 Efecto neuromodulador

Si bien en el campo de las neurociencias es ampliamente aceptado el concepto de asignar una facultad mental a la actividad de una región cerebral en específico, es claro pensar que se trata de una forma simplificada de observar la relación que guardan las distintas regiones cerebrales con un comportamiento o conducta determinada.

Gracias a las técnicas de neuroimagen y EMT utilizadas en estudios recientes se ha demostrado que el pensamiento y comportamiento son resultado de la interacción entre varias regiones cerebrales cercanas y distantes que forman una intrincada red de conexiones funcionales [5]. La técnica de EMTr permite modular de manera temporal el funcionamiento de dichas redes resultando en cambios en su reorganización, con un impacto sobre medidas conductuales asociadas.

La EMTr es capaz de generar una lesión virtual transitoria y reversible, lo cual no sólo la convierte en un instrumento útil para generar inferencias acerca del funcionamiento de un cerebro sano, también permite generar un efecto disruptivo en áreas del cerebro cuyo funcionamiento se encuentre alterado por algún padecimiento neurológico. La EMTr es capaz incluso de causar alteraciones en los patrones de liberación de dopamina en el hipocampo dorsal, el núcleo de accumbens, sistemas mesolímbicos y mesoestriatales cuando zonas de la corteza prefrontal son estimuladas. Este efecto sugiere un beneficio particular para pacientes con un bajo nivel de función dopaminérgica, una característica común en personas con alguna adicción [20].

1.1.5 Bases fisiológicas de la EMT

En la EMT la corriente que circula por la bobina de estimulación induce un campo magnético que penetra el cráneo sin atenuación, este campo induce una corriente débil y de muy corta duración en el sitio de la estimulación. Al generar esta activación artificial de la zona cortical estimulada se crea una perturbación en el proceso que normalmente se lleva a cabo en el área. Esta “lesión virtual”, aplicada en un momento preciso, puede alterar de manera temporal y reversible el comportamiento neuronal del área.

No se conoce a ciencia cierta el mecanismo de acción neural que la EMT tiene sobre las células de la corteza cerebral. En términos generales un estímulo único con la intensidad y orientación adecuadas despolariza la membrana neuronal e induce un potencial de acción que puede desencadenar una respuesta postsináptica excitatoria seguida de un potencial inhibitorio [10].

Cuando se aplica EMT sobre la corteza motora correspondiente al control de los movimientos de la mano, las neuronas del tracto corticoespinal son despolarizadas y pueden evocar un movimiento contralateral de los dedos o muñeca, mientras más grande sea el impulso mayor será la respuesta evocada, lo cual permite cuantificarlo [21].

Cuando la estimulación consiste de pulsos simples o trenes de corta duración, la hipótesis más probable es que la frecuencia de los pulsos entorpece de forma cíclica el ritmo normal de activación de los grupos de neuronas corticales encargadas de una función determinada, forzándolas a entrar en un periodo de actividad refractaria que entorpece los patrones normales oscilatorios de la redes neurales [10].

Ahora bien, los efectos diferidos de la estimulación continúan sin ser esclarecidos por completo. El efecto a largo plazo pudiera ser explicado gracias a que la EMT modifica la eficacia sináptica de ciertos circuitos neurales, incluso mostrando un comportamiento similar a los mecanismos de depresión y potencialización sináptica a largo plazo. Estudios recientes confirman este efecto de depresión corticoespinal es potencializada cuando se aplica EMTr de baja frecuencia precedido por un tren de alta, a esto se le denomina priming [22].

1.1.6 Consideraciones de seguridad

Los efectos adversos tras la EMT de un solo pulso sobre el córtex motor son algo muy raro. El efecto potencialmente adverso que ha provocado más inquietud hasta ahora ha sido la epilepsia, aunque teóricamente el riesgo es remoto si no se sobrepasa los límites máximos de duración en los que la técnica ha demostrado no generar efectos secundarios serios (véase Tabla 2).

Tabla 2 Máxima duración de las series en las que no se ha registrado ningún ataque epiléptico o síntoma potencial observable.

Frecuencia	100% *	110%	120%	130%	140%	150%	160%	170%	180%
1 Hz	>1800	>1800	360	>50	>50	>50	>50	27	11
5 Hz	>10	>10	>10	>10	7.6	5.2	3.6	2.6	2.4
10 Hz	>5	<5	4.2	2.9	1.3	0.8	0.9	0.8	0.5
20 Hz	2.05	1.6	1.0	0.55	0.35	0.25	0.25	0.15	0.2
25 Hz	1.28	0.84	0.4	0.24	0.2	0.24	0.2	0.12	0.08

**Intensidad de estimulación dada % del umbral motor (Wassermann et al., 1998)*

La evaluación de los parámetros de estímulo pertinentes a la inducción de las crisis (intensidad, frecuencia y la duración del tren) ha llevado a la creación de recomendaciones específicas y una guía para EMTr. Es razonable tener en cuenta que factores como cuadros de epilepsia previos y neurocirugía como una más que absoluta contraindicación de la estimulación [6].

1.2 Adicción

La adicción es un padecimiento complejo que involucra la química de la droga, la química del cerebro, los procesos mentales y las interacciones sociales. La investigación al respecto ha demostrado el involucramiento de los centros de recompensa del cerebro correspondientes al sistema límbico [23], el cual proporciona el impulso emocional que, sumado al pensamiento racional de las áreas de la corteza frontal, generan el comportamiento típico de una adicción.

El ciclo de una adicción puede ser separado en 4 etapas; intoxicación, antojo, consumo y abstinencia. En cada una de estas etapas participan diferentes estructuras cerebrales que a su vez generan diversos procesos mentales que involucran distintos tipos de neurotransmisores, entre ellos resalta el papel que juega el circuito mesolímbico de dopamina el cual se encuentra asociado con el reforzamiento del efecto de la droga [24].

Se sabe que existen distintas áreas del cerebro que están asociadas con las adicciones y en particular algunas que toman parte en la aparición del deseo de consumo de algún tipo de droga cuando existen estímulos sensoriales relacionados a ésta. El “antojo” de la droga es una respuesta aprendida que involucra factores sociales y ambientales aunados a la memoria de la experiencia de la droga almacenado en distintas estructuras cerebrales que en conjunto producen el deseo por la droga [25].

1.2.1 Circuito neuronal de la adicción

Se ha demostrado que los circuitos dopaminérgicos que incluyen el núcleo accumbens, amígdala y el hipocampo, se encuentran asociados con el refuerzo de los efectos de la droga y también con las memorias y las respuestas condicionadas vinculadas con el antojo [24]. Este circuito incluye también a la corteza prefrontal, corteza orbitofrontal (OFC) y el cíngulo anterior (ACC) que están involucradas con la experiencia consciente de la intoxicación causada por la droga.

El papel de la corteza prefrontal y otras zonas que interactúan con ella resultan ser la clave para entender porque bajo las mismas circunstancias algunas personas pueden

volverse adictas a una droga y otras no. La respuesta podría encontrarse en el proceso modulador entre la corteza prefrontal y las áreas receptoras de dopamina que favorecen un comportamiento impulsivo y de gusto por el riesgo que podría favorecer conductas adictivas [24].

La OFC, el estriado dorsal, corteza prefrontal, amígdala basolateral, hipocampo e ínsula se encuentra involucrados en la generación del deseo por la droga mientras que el giro cingular, la corteza dorsolateral y la corteza frontal inferior en el control inhibitorio alterado. La transición hacia la adicción conlleva neuroplasticidad en todas estas estructuras que puede comenzar con pequeños cambios en el sistema mesolímbico de dopamina y una eventual cascada de neuroadaptaciones en las demás estructuras relacionadas [26].

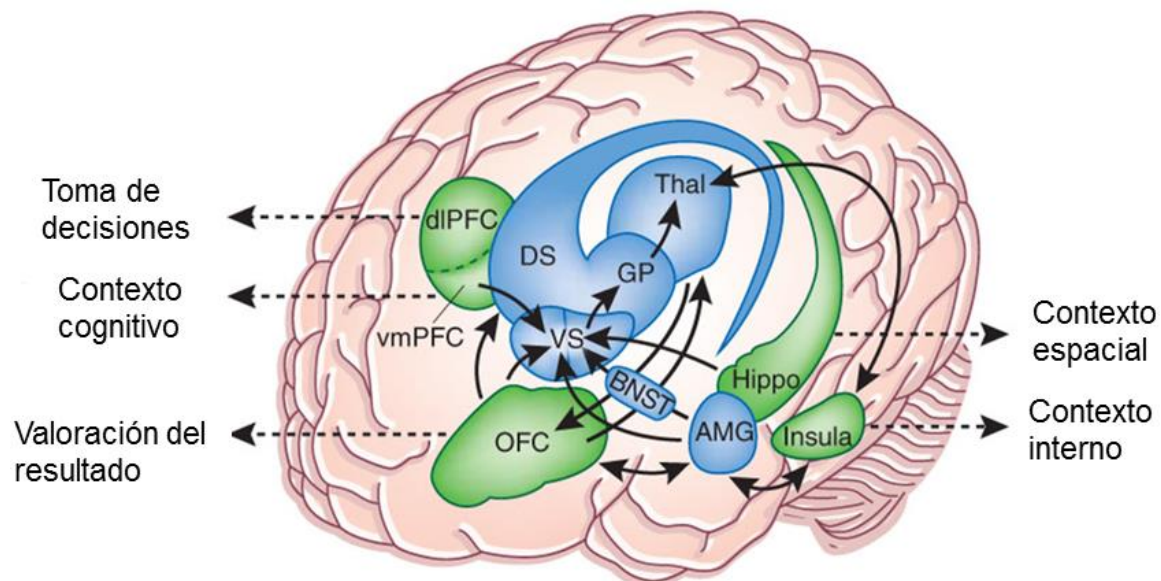


Figura 5 Esquema del posible circuito neurológico que ilustra las áreas involucradas en el proceso mental del deseo hacia una droga inducido por un contexto relacionado con la adicción.

Verdes, áreas corticales; azules, áreas subcorticales. AMG, amígdala; DS, estriado dorsal; VS, estriado ventral; GP, globo pálido; BNST, estria terminal; thal, tálamo. Tomada y adaptada de George & Koob, (2011).

Se piensa que diferentes tipos de representaciones contextuales son procesadas en diferentes áreas del cerebro (ver figura 5): el contexto cognitivo en la corteza ventromedial prefrontal (vmPFC), el contexto interno en la ínsula y el contexto espacial en el hipocampo. Estas representaciones, junto con la representación de sus resultados y

valorización en la corteza orbitofrontal, pueden influir en la dorsolateral y contribuir a la toma de decisiones riesgosas y al relapso en la búsqueda de la droga [27].

Con respecto a la adicción a la nicotina, un estudio sugiere que el papel de la DLPFC en sujetos con dependencia a la nicotina se encuentra ampliamente relacionado con la modulación de respuestas neurales como el deseo y la expectativa por fumar cuando los sujetos son expuestos a estímulos relacionados con el cigarro[28], lo que confirma el rol de ésta región de la corteza cerebral en uno de los aspectos esenciales de la conducta reincidente propia de una adicción.

1.2.2 EMT y adicciones

El estudio de los efectos de la EMT en el tratamiento de las adicciones ha sido impulsado en mayor medida por sus características no invasivas y efectos secundarios casi nulos. Esta técnica ha comprobado con éxito ser un nuevo método de intervención terapéutica en diversos trastornos psiquiátricos y neurológicos tales como depresión, esquizofrenia, trastornos obsesivo-compulsivos, estrés post-traumático, enfermedad de Parkinson, accidentes cerebro-vasculares, dislexia, epilepsia entre otros [25].

De ahí que en estudios recientes se ha estudiado el efecto de la EMT frente a la exposición a diferentes drogas, incluyendo alcohol, cocaína y nicotina [29]. Para esto, se ha evaluado la excitabilidad cortical mediante diversos paradigmas de estimulación que incluyen la medición del Umbral Motor (UM) e Inhibición o facilitación intracortical de largo plazo.

En la parte terapéutica se ha evaluado el efecto de una o más sesiones de EMT en sujetos con dependencia a las drogas anteriormente mencionadas, encontrando resultados prometedores [29]. En el caso concreto de pacientes con adicción a la nicotina, Eichhammer et al., (2003) investigaron si la EMTr aplicada a las regiones frontales del cerebro podría disminuir las conductas adictivas de sus pacientes; encontrando que el número de cigarrillos fumados disminuía significativamente luego de 2 sesiones de EMTr de alta frecuencia (20Hz) sobre la corteza dorsolateral prefrontal izquierda en comparación con dos sesiones simuladas. El estudio también evaluó los efectos de la EMTr en el deseo por fumar, mediante Escalas Visuales Analógicas (EVA) aplicada 30

minutos después de la estimulación. Sin embargo los niveles de antojo por fumar permanecieron sin ningún cambio significativo [2].

En esta línea se han llevado a cabo otros estudios cuyos resultados sugieren que la EMTr podría ser un tratamiento eficaz para la adicción a la nicotina, cocaína y alcohol (véase tabla 3). Aun así, es necesaria una labor más a fondo en el entendimiento de la alteración neurofisiológica que conlleva al abuso de sustancias, así como la forma en la que la EMTr podría ser enfocada a optimizar el tratamiento de las adicciones[30].

Tabla 3 Resumen de estudios que examinaron la EMTr como tratamiento para la adicción

Estudio	Objetivo	Sujetos	Resultados
Camprodon et al. 2007	EMTr de 10 Hz sobre la DLPFC para tratar el deseo por cocaína	6 pacientes dependientes a la cocaína	↓Decremento en el deseo por la cocaína inmediatamente después de la EMTr en el lado derecho de la DLPFC
Johanne et al. 2003	EMTr de 20 Hz; activa vs. sham para tratar el deseo por el cigarro y su consumo.	11 sujetos dependientes a la nicotina	↓Decremento en el deseo por fumar después de una sesión activa de EMTr sobre la DLPFC izquierda
Biswa R. Mishra et. al. 2003	10 sesiones de EMTr de 10 Hz; activa vs. sham para tratar el deseo por consumir alcohol.	45 sujetos dependientes al alcohol	↓Decremento en el deseo por consumir alcohol un mes después de la última estimulación activa sobre la DLPFC derecha.

En otro estudio Amiaz et al. (2009) evaluaron los efectos en antojo y consumo de cigarrillos causados por la EMTr de alta frecuencia sobre la DLPFC. Este experimento se llevó a cabo con un mayor número de voluntarios (n=48) y se aumentó el número de sesiones de EMTr (10 sesiones diarias), los resultados fueron evaluados mediante EVA y registro de consumo. Los participantes fueron además expuestos a estímulos visuales neutrales o relacionados con fumar antes de la sesión de estimulación. Se encontró que luego de 10 sesiones el consumo y dependencia por la nicotina de los sujetos había disminuido, además el deseo por fumar había sido casi bloqueado por la EMTr. Sin embargo el efecto tendía a desaparecer luego de algunos meses [33].

Todos estos estudios, en un principio exploratorios, sentaron las bases del estudio de los efectos a corto y largo plazo de la EMTr, sin embargo, ninguno de ellos evaluó los efectos de la técnica más allá de las medidas auto-reportadas, por lo que técnicas de imagen y electrofisiología son necesarias para esclarecer el mecanismo del funcionamiento de la EMTr.

1.3 Resonancia Magnética Nuclear

La NMR (del inglés Nuclear Magnetic Resonance) es una técnica experimental asociada al momento angular intrínseco del espín y a las propiedades magnéticas de los núcleos atómicos.

Cuando situamos un núcleo en un campo magnético tiene lugar una interacción entre el momento magnético del núcleo y el campo, resultando en un desdoblamiento energético. Mediante la absorción y emisión de fotones electromagnéticos con la frecuencia adecuada pueden producirse transiciones entre estos nuevos estados energéticos.

Los momentos magnéticos de los núcleos no solo interaccionan con el campo magnético aplicado sino también con los momentos magnéticos de los otros núcleos y con los electrones. En consecuencia, el espectro NMR refleja el entorno magnético de los núcleos, revelando la estructura del material al que pertenecen.

a) Fundamentos teóricos

El fenómeno del magnetismo tiene su origen en el movimiento de las partículas cargadas eléctricamente. La magnetización se refiere al fenómeno causado por una orientación no aleatoria del campo magnético de los electrones. Esta orientación da lugar a una magnetización macroscópica neta. La mayoría de los núcleos atómicos también posee un pequeño campo o momento magnético, que es el que se utiliza en la obtención imágenes por RM. Este magnetismo nuclear tiene su origen en el espín nuclear y el valor del momento angular asociado a él, y se encuentra directamente relacionado tanto con el número atómico como con el número másico o bien el número de neutrones [34]. Existen dos situaciones en las que se origina un momento magnético nuclear neto:

1. Cuando el número de protones y el número másico son impares (o el número de neutrones es par), como en el ^1H , ^{15}N , ^{19}F , ^{23}Na y P^{31} .
2. Cuando el número de protones es par y el de neutrones es impar (o número másico impar) como el ^{13}C .

El hidrógeno, con un protón (^1H) como núcleo más simple de todos los elementos, es un buen isotopo para la obtención de imágenes al ser el núcleo más abundante en el cuerpo y poseer un momento magnético muy grande. Normalmente estos spines o momentos magnéticos están alineados de forma aleatoria, dado que no se encuentran sometidos a ningún campo magnético externo, no existe magnetización neta (véase fig.6). Cuando el material se sitúa en el interior de un campo, estos momentos magnéticos se alinean con dicho campo magnético existiendo una mayor cantidad de spines que se orientaran en el mismo sentido que el campo magnético principal en comparación con los que lo harán en sentido contrario.

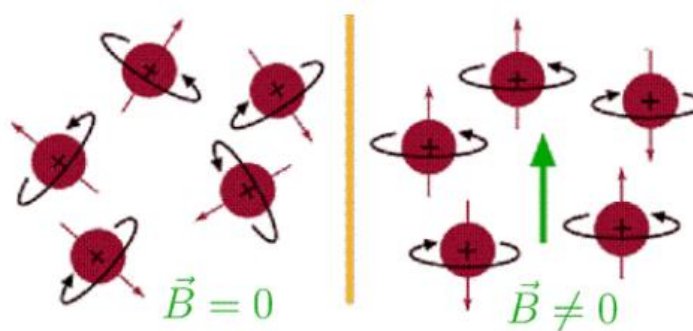


Figura 6 Representación clásica de los momentos magnéticos de los núcleos

a) Los momentos magnéticos de un material no sometido a un campo magnético externo, se orientan de forma aleatoria, no proporcionando ningún momento magnético neto. b) Cuando el mismo material se somete a un campo magnético externo, los spines se alinean a lo largo de la dirección del campo magnético aplicado, proporcionando un momento magnético neto (magnetización neta) que es la base de la señal de RM.

Esto dará como resultado un momento magnético neto que se situara en equilibrio. Esta magnetización neta, es la base para la creación de la señal RM. Cuando los espines se alinean con este, proporcionando una magnetización longitudinal neta, M_z , en la dirección del campo aplicado.

Estos spines procesan alrededor del eje z a una frecuencia directamente proporcional a la intensidad del campo magnético (ver fig. 7). La ecuación de Larmor (1) describe la dependencia entre el campo magnético B_0 y la frecuencia angular a la que están procesando dichos spines:

$$\omega_0 = \gamma |B_0| \quad [1]$$

dónde:

ω_0 = Frecuencia de Larmor (MHz)

γ = Razón giromagnética del protón de hidrógeno (MHz/T)

$|B_0|$ = Intensidad del campo magnético externo (T)

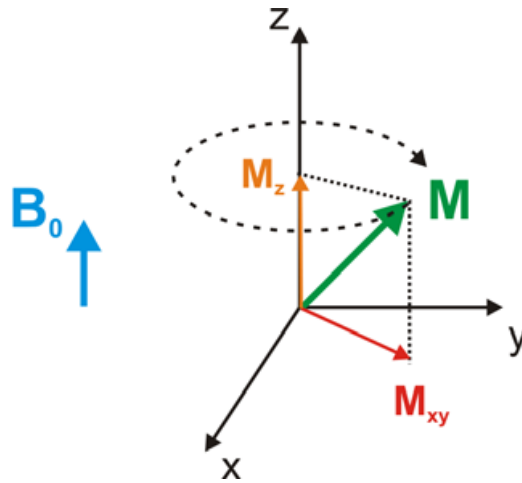


Figura 7 Momento angular del protón

El vector magnetización precesa alrededor del eje longitudinal a una frecuencia proporcional a la intensidad del campo magnético aplicado (B_0). M_{xy} : componente transversal de la magnetización

M. M_z : componente longitudinal de la magnetización M.

La constante giromagnética γ depende del átomo bajo estudio, y tiene un valor de 42.58 MHz/T para el H^1 . Los protones de hidrogeno son los que usualmente se utilizan en prácticas clínicas debido a su gran abundancia en el tejido vivo.

Cuando los protones están alineados con el campo magnético principal se encuentran en estado de equilibrio. Si se aplica un impulso de RF que tenga la misma frecuencia que la frecuencia de precesión de los protones, se provoca una transferencia de energía entre estos dos sistemas, es decir, estos dos sistemas entran en resonancia. Durante este proceso de resonancia, los protones absorben energía y pasan de un estado de reposo a un estado de excitación. Al cesar el pulso de radiofrecuencia, los protones previamente excitados tienden a regresar a su situación de reposo (de mayor estabilidad) liberando la energía previamente absorbida.

Desde el punto de vista mecánico-cuántico en la excitación la desviación del vector de magnetización global de un grupo de núcleos, respecto a su posición de equilibrio, equivale a la transición desde un estado de energía bajo hasta otro más alto [35]. Dicha transición solo tiene lugar cuando la energía de los cuantos del campo de radiofrecuencia equivale exactamente a la diferencia de energía magnética entre los dos estados energéticos.

La relajación de la energía ganada tras el cese de la radio-onda, ocurrirá igualmente por los dos fenómenos contrarios. Por un lado, los núcleos perderán la fase de precesión y por otro, volverán a su alineamiento original con las líneas del campo inductor por devolución al medio circundante del exceso energético previamente adquirido.

La relajación T1 (relajación longitudinal); se puede definir como el tiempo que los protones necesitan para recuperar el 63.2% de su valor Mz original, tras aplicar un pulso de radiofrecuencia que hace rotar 90° al momento magnético neto original. La relajación T2 (relajación transversal) se define como el tiempo necesario para reducir la magnetización transversal neta a un 37% del valor original (ver Fig. 8).

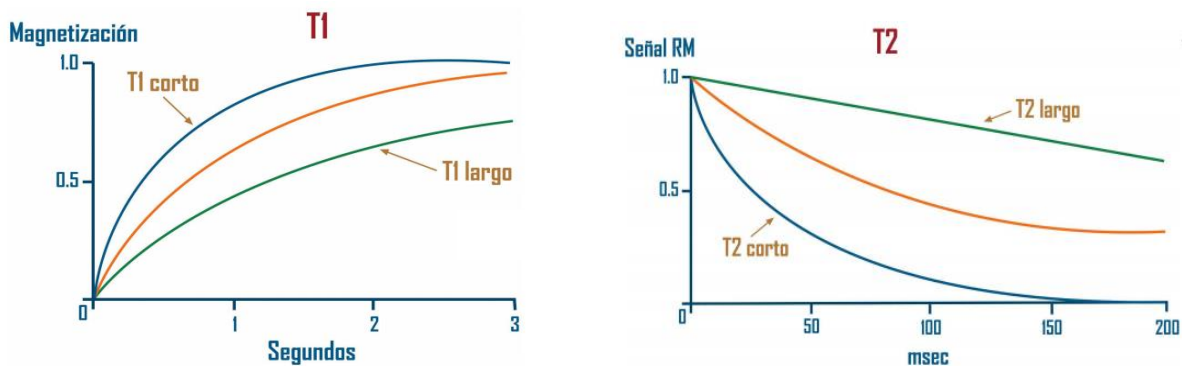


Figura 8 Curvas exponenciales representativas de cada fenómeno [36]

Se puede describir un tercer fenómeno de relajación llamada T2* (T2 estrella) determinado por inhomogeneidades en el campo magnético local donde precesan los núcleos y relacionado con la imperfección en la inducción del campo magnético principal de origen instrumental pues ni siquiera con los más modernos electroimanes empleados en los sistemas de resonancia se consigue inducir campos magnéticos perfectamente

homogéneos en la materia expuesta. El fenómeno T2* es un proceso T2 dinamizado por la presencia de moléculas capaces de absorber radiación electromagnética en la gama de las radiofrecuencias y es principalmente útil para la identificación por imagen de determinados procesos donde aparecen implicados estos productos como la hemoglobina y sus productos de degradación en hemorragias intracraneales [37]. En este sentido, la identificación de procesos por la presencia de determinados productos, podría decirse que se trata de un proceso que permite realizar espectroscopias 'in vivo'.

1.3.1 Resonancia Magnética Funcional

La Imagenología por Resonancia Magnética se ha convertido en una herramienta esencial para el diagnóstico de los desórdenes del sistema nervioso y es usada ampliamente para el diagnóstico de diversas patologías en la mayoría del cuerpo.

Dentro de los diferentes métodos de evaluación de las funciones cerebrales, la Imagenología por Resonancia Magnética Funcional (fMRI, por sus siglas en inglés) marca un hito como técnica imagenológica no invasiva con buena resolución tanto espacial como temporal. Se basa en el contraste natural que genera la desoxihemoglobina en el campo magnético detectable con técnicas rápidas sensibles a susceptibilidad magnética como las eco-planares.

Es a partir de los primeros años 90 cuando se inicia el uso de la resonancia magnética como un método para obtener imágenes funcionales del cerebro. La amplia aceptación que ha tenido la fMRI, se debe a que tiene una resolución temporal y espacial superiores a otras técnicas de imagen y no es invasiva. El término fMRI implica que la imagen puede ser obtenida de una zona cerebral específica que no es sólo anatómica o estructural, sino funcional, biológica y metabólica.

Las imágenes resultantes forman un arreglo en 4D en donde la cuarta dimensión representa el dominio del tiempo, cada uno de estos volúmenes del arreglo de 4D es dinámico. Usualmente los sujetos que son escaneados usando esta técnica llevan a cabo tareas o son expuestos a estímulos en determinados tiempos. Los cambios locales en la señal entre los diferentes volúmenes de las adquisiciones indican actividad cerebral si estos cambios muestran una correlación con los tiempos del estímulo.

1.3.2 La señal BOLD

La capacidad de registrar la actividad neuronal en el cerebro humano con la técnica BOLD (Blood Oxygen Level-Dependent) fue demostrada en 1992 por los grupos de Kwong y Ogawa [38], quienes evaluaron percepción visual, así como por Bandettini quien utilizó pruebas motoras.

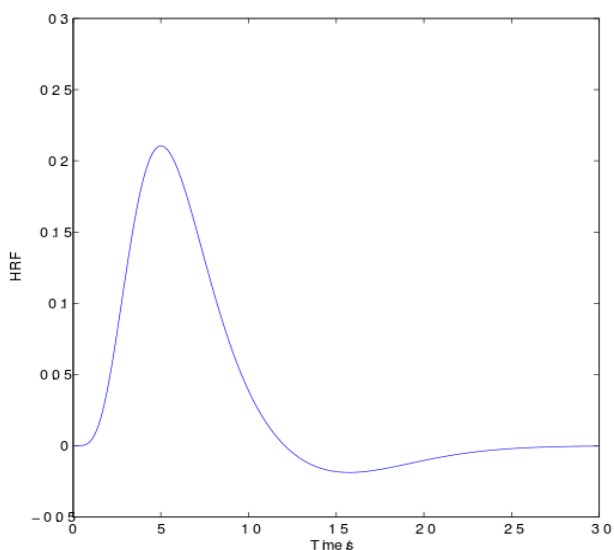


Figura 9 Función de Respuesta Hemodinámica característica.

Luego de un periodo de latencia inicial de alrededor de 1.5 segundos la señal incrementa y alcanza un máximo alrededor de los 5.5 segundos después de la actividad neural. Después de 10 segundos la señal cae por debajo del nivel de actividad neural por alrededor de 5 segundos. Entre los 15 y 20 segundos después de la actividad neural la señal se recupera a su estado de reposo.

Se utiliza el contraste natural que brinda un elemento paramagnético: la desoxiHb. En el microambiente cerebral una actividad cortical dada induce cambios bioquímicos y hemodinámicos manifestados por aumento local del flujo cerebral (CBF) y del volumen sanguíneo cerebral (CBV). Hay extracción del oxígeno circulante, vasodilatación compensatoria y aumento de oxihemoglobina (oxiHb). La disminución de la relación deoxiHb/oxiHb se traduce en señal gracias a las propiedades paramagnéticas de la desoxiHb. Este cambio en la intensidad de señal se conoce como efecto BOLD, es mínimo (alrededor del 1-2%), pero puede detectarse con técnicas sensibles como las eco planares (Echo Planar Imaging, EPI) que utilizan contrastes ponderados en T2* [39].

En equipos de 3 Teslas, los tiempos de eco ubicados entre los 30 y los 50ms ofrecen una buena relación entre la fuerza de la señal y el contraste T2*. El incremento en la intensidad de la señal BOLD no es inmediato, en cambio, la duración de la actividad cerebral es convolucionada con una función característica denominada Función de Respuesta Hemodinámica (Hemodynamic Response Function, HRF), que representa la respuesta en oxigenación de la sangre a un evento breve infinitesimal que causa la actividad neural [40] (véase fig.9).

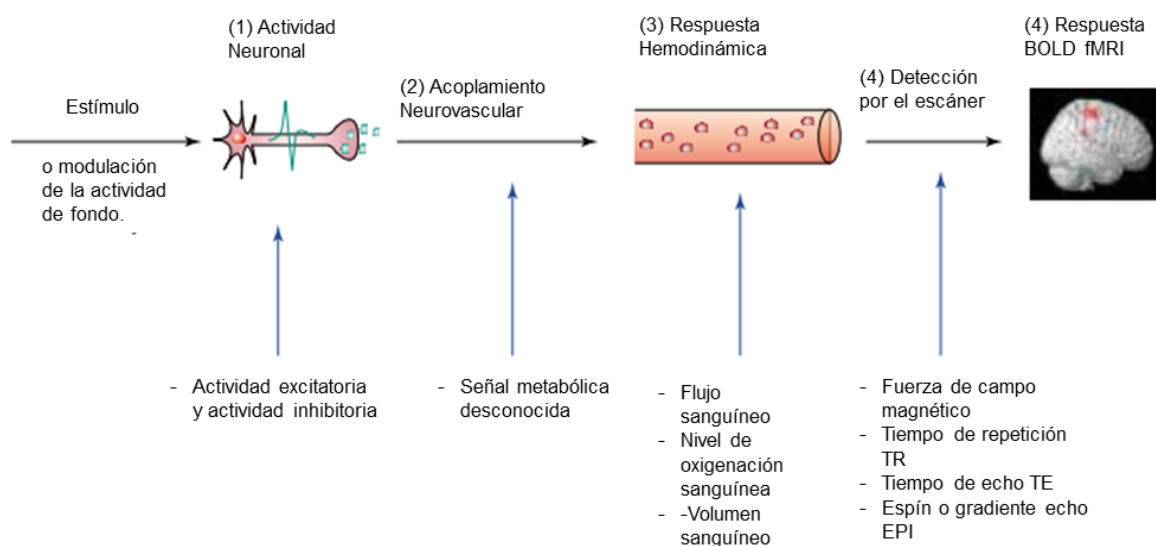


Figura 10 La respuesta hemodinámica y la señal BOLD

La señal BOLD se encuentra constituida por varios distintos elementos que afectarán la cantidad en la que la respuesta BOLD refleja una respuesta hemodinámica dada. (1) La respuesta neuronal al estímulo (2) la compleja relación entre la actividad neuronal y el desencadenamiento de la respuesta hemodinámica; (3) la respuesta hemodinámica por sí misma y (4) la forma en la que la respuesta es detectada por el escáner de MRI. Tomada y adaptada de Arthurs & Boniface (2002).

A pesar del incremento reciente en los estudios de fMRI, la naturaleza exacta del acoplamiento entre la actividad neural y el aumento de la respuesta hemodinámica permanece sin ser entendido por completo. Hay muchos parámetros experimentales en la fMRI que modifican la cantidad de señal BOLD; incluyendo la fuerza del campo magnético del equipo, el tiempo de eco y el tipo de técnica de imagen involucrada (ver fig. 10), por lo que aún existen aspectos de esta técnica que podrían ser mejorados [41].

1.3.3 Paradigma

En términos prácticos se denomina paradigma la prueba o tarea que el paciente debe ejecutar dentro del equipo de MRI en búsqueda de un área de activación. Esta actividad es sincrónica con la realización de la secuencia BOLD.

Desde el punto de vista del diseño los paradigmas se pueden dividir en dos categorías: bloques y de evento relacionado. En el paradigma de bloques se presentan eventos del mismo tipo en secuencias periódicas a iguales intervalos de tiempo; el análisis se obtiene al examinar el cambio promedio de señal a través de todo el bloque, basados en el contraste entre el píxel activo y el píxel inactivo [42]. En el paradigma de eventos relacionados se intenta aislar la respuesta a un estímulo individual o incluso a sus componentes., basado en la detección de cambios hemodinámicos secundarios a eventos neurales de corta duración.

Los diseños de bloque son ideales para localizar áreas funcionales y estudiar un procesos de estado fijo (ej. atención). En un diseño de bloques alternantes, en donde la condición A y B se alternan, son especialmente útiles cuando se busca determinar que voxels muestran una actividad diferenciada en función de las variables (ver fig. 11).



Figura 11 Diseño de bloque alternantes

Aunque las técnicas de fMRI varían de estudio a otro, nuestro protocolo comparte una serie de características comunes con el resto de trabajos anteriores:

- 1) Paradigma de estímulo típicamente en bloques diseñados con ciclos alternativos, sin y con actividad.
- 2) Adquisición de datos usando protocolos de imagen eco-planar.

3) Procedimiento de realineación de imagen para compensar el movimiento de la cabeza a lo largo de todas las imágenes.

4) Análisis de correlación o regresión para identificar voxels donde la señal de fMRI está influenciada por el estímulo.

Habiendo finalizado los procedimientos matemáticos y estadísticos que permiten la obtención de las activaciones en las imágenes de fMRI, se puede comenzar la interpretación de éstas. Para ello se parte del conocimiento de los procesos neurocognitivos involucrados en la tarea o estímulo evaluado en el paradigma y se establecen inferencias en relación a los mapas de activación generados.

La interpretación de las imágenes de fMRI no es del todo fácil, es indispensable tener en cuenta ciertos aspectos como la variación entre sujetos, las desactivaciones (o activaciones negativas), principios de inserción pura y causalidad así como la ausencia de activaciones[43], entre otros.

1.3.4 EMT y fMRI

Se sabe que la EMT puede producir cambios en la actividad del área donde se produce, pero también en regiones conectadas anatómicamente con ésta [44]. Esto abre nuevas perspectivas al uso de la EMT y a su utilización conjunta con otras técnicas de neuroimagen, en beneficio de una gran variedad de propósitos. Los experimentos que combinan EMT, evaluaciones psicométricas e imagen funcional permiten estudiar las respuestas conductuales, junto con los cambios de la actividad cerebral y el esclarecimiento de las redes de conexiones entre las diferentes áreas del cerebro.

El efecto de la EMT en estas así llamadas “redes” resultan ser anatómicamente específicos pero también dependientes del contexto, transformándose con el estado funcional presente de la red estimulada en lugar de simplemente reflejar una conectividad anatómica fija e invariante por su contexto [5]. Los efectos perceptuales y de conducta de la EMT plantean una nueva perspectiva del funcionamiento del cerebro y cómo sus interacciones funcionales entre áreas remotas pero conectadas pueden dar pie a muchos de los procesos cognitivos y de percepción.

Este tipo de hallazgos han desencadenado un avance en los métodos que hacen posible la combinación de la EMT con el registro del cambio en la actividad neural a través del cerebro. En un primer acercamiento, la medición de los efectos “off-line” de la EMT pueden ser utilizados para estudiar los cambios a mediano plazo (más allá de unos minutos) que suceden en el cerebro.

Adicionalmente, gracias al desarrollo de equipos compatibles con los métodos de fMRI, es posible lograr una combinación de técnicas de estimulación y adquisición de imágenes que permite estudiar los efectos “online” de la EMT en las redes neuronales con la precisión anatómica que la fMRI puede otorgar.

2 HIPÓTESIS

Aplicar EMTr de baja frecuencia inhibe la DLPFC izquierda y provoca un efecto disruptivo en el circuito neuronal de la adicción que favorece la reducción de los niveles de deseo propios de la abstinencia al tabaco.

2.1 Hipótesis particulares:

- La EMTr de baja frecuencia es capaz de inhibir la zona de la DLPFC causando un efecto disruptivo local que alterará el contexto cognitivo habitual y la respuesta frente a los estímulos visuales.
- Otras regiones del cerebro que se encuentran conectadas con la DLPFC serán afectas por la EMTr develando el circuito neuronal que favorece el control del deseo de fumar.
- El efecto neuromodulador de la EMTr de baja frecuencia provocará que los niveles de deseo por fumar auto reportados disminuyan pese a la exposición de estímulos relacionados con el tabaco.

3 OBJETIVO

Evaluar el efecto de la EMTr de baja frecuencia aplicada a la DLPF izquierda en el deseo por fumar causado por la abstinencia temporal al tabaco.

3.1 Objetivos particulares:

- Identificar mediante fMRI las zonas de actividad neuronal vinculadas a la respuesta ante estímulos visuales relacionados con el tabaco.
- Determinar si existe una diferencia en actividad cerebral y de conducta entre la estimulación real y la simulada.
- Detectar y caracterizar mediante fMRI las zonas de la corteza cerebral involucradas en generar el deseo por fumar a través de paradigmas visuales relacionados con el tabaco.
- Evaluar el efecto que la EMTr tiene sobre el patrón y áreas de activación de la corteza cerebral asociadas con el deseo de fumar.
- Cuantificar la disminución en la sensación de deseo y otros estados de ánimo presentes en los sujetos de experimentación antes y después de la estimulación.
- Comprobar si la EMTr reduce de manera significativa el consumo de cigarrillos por día de los sujetos que serán estimulados.

4 METODOLOGÍA

4.1 Participantes

Para la realización de esta investigación se llevó a cabo un reclutamiento a través de carteles y redes sociales mediante una plataforma virtual de registro y evaluación previa de cada candidato (<http://es.surveymonkey.com/s/DNF7XLV>). Se registraron 99 candidatos cuyos datos fueron ordenados y evaluados de acuerdo a los siguientes criterios:

Criterios de inclusión:

- Edad de 18 a 50 años.
- Con adicción al tabaco comprobado. Deben ser fumadores con 2 o más años de antigüedad y obtener un puntaje de 5-8 en test de Fagerström de dependencia a la nicotina.
- Diestros.

Criterios de Exclusión:

- Sujetos que se encuentren actualmente haciendo un intento serio por dejar de fumar o utilizando alguna terapia de sustitución de nicotina.
- Con problemas serio de salud.
- Con alguna neurocirugía previa.
- Que hayan sufrido de alguna crisis epiléptica.
- Sufran de alguna adicción a cualquier otro tipo de droga, abuso de alcohol o sintomatología psiquiátrica.
- Presenten alguna condición que no permita el estudio por resonancia magnética.
- Se encuentren tomando medicamentos que alteren el funcionamiento del sistema nervioso

Se seleccionaron 19 participantes que cumplían con los criterios previamente enlistados y éstos fueron convocados a una entrevista individual. Únicamente 14 sujetos respondieron la invitación y accedieron a tomar parte en el experimento. Cada uno de ellos fue informado acerca de la técnica, alcances y objetivo del estudio y firmaron una carta de consentimiento informado para poder participar en éste. Los participantes recibieron un estímulo económico (tarjetas departamentales) luego de completar satisfactoriamente las distintas etapas y evaluaciones que comprendía el experimento. El proyecto fue evaluado y aprobado por el Comité de ética de la división de Ciencias Básicas e Ingeniería de la UAM-Iztapalapa.

Dos participantes no pudieron completar la prueba satisfactoriamente y otros dos fueron eliminados del análisis final de resultados debido a artefactos en las imágenes. Los datos demográficos de la muestra final (n=10) se enlistan a continuación:

Tabla 1 Características demográficas y de hábitos de fumar de los 10 participantes

Variable	Valor (media ± SD)
Características generales	
Edad (rango, 22-38)	27.5 ± 4.9
Género (M/F)	5/5
Características relacionadas al tabaquismo	
Cigarrillos fumados diariamente	11.6 ± 4.1
Puntuación FTND* (rango 5-8)	5.9 ± 0.8
Años fumando	9.9 ± 4.2
*FTND = Fagerström Test for Nicotine Dependence	
*SD = Desviación Estándar	

4.1 Diseño del experimento

Previo a cada prueba, se les pidió a los participantes que dejaran de fumar con al menos 6 horas de anticipación. Se llevaron a cabo 2 sesiones de EMTr, una estimulando activamente la corteza DLPF izquierda y otra utilizando estimulación simulada (Sham) en un diseño cruzado aleatorizado, en donde los participantes podían iniciar con una estimulación activa o bien con una simulada. La separación entre pruebas fue de al menos una semana entre cada sesión de estimulación para evitar efectos de acarreo,

durante las cuales la interacción entre el investigador y el participante se restringió al mínimo mediante el uso de instrucciones estandarizadas previamente establecidas.

En cada sesión y previo a la estimulación e inmediatamente después de esta, se aplicó un test de Escalas Análogas Visuales (EVA) diseñado para medir el deseo por fumar. El cuestionario incluía la medición de otros estados de ánimo incluyendo 2) Ansiedad, 3) Tristeza e 4) Incomodidad.

Adicionalmente se les pidió a todos los participantes llevar un registro de los cigarrillos fumados diariamente en un periodo de una semana antes y después de cada sesión de estimulación para evaluar los efectos a largo plazo que pudieran registrarse luego de la aplicación de la técnica.

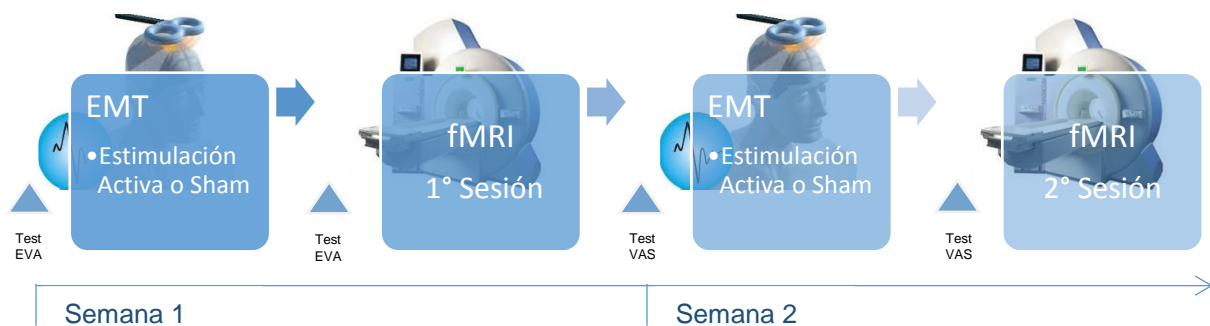


Figura 12 Esquemático de las tareas realizadas a lo largo del experimento

4.2 Tratamiento de EMT

Todos los participantes recibieron el tratamiento de EMTr usando un equipo MagVenture® MagPro R30 que cuenta con una bobina de diseño en forma de 8 (cool B-65), capaz de genera pulsos activos bifásicos de 280 μ s. El procedimiento fue realizado en una habitación tranquila localizada junto a la sala de control de escáner de RMN. Se les pidió a los participantes que se sentaran en un sillón cómodo y la bobina de estimulación fue fijada en posición con la ayuda de un brazo de metal ajustable. Se colocó una gorra de licra a los participantes para facilitar la medición de las distintas medidas anatómicas del cráneo necesarias para ubicar los puntos de estimulación.

4.3.1 Determinación del Umbral Motor

El umbral motor fue determinado utilizando la técnica equivalente de observación de movimiento (OM). De acuerdo a este método, la OM es una forma confiable de obtener el umbral motor (MT, por sus siglas en inglés) en donde los potenciales motores evocados son remplazados con movimientos observables del pulgar, dedos o muñeca del paciente [19].

La estimulación cortical fue realizada mediante una bobina en forma de 8 utilizando una frecuencia 0.2 Hz sobre la corteza motora izquierda para inducir un movimiento visible en la musculo Abductor Pollicis Brevis (APB) de la mano derecha la mitad de las veces en las que el pulso era aplicado. La potencia es incrementada en escalones de 5% hasta observar el movimiento del pulgar o la muñeca del sujeto. Luego de esto, la potencia es aumentada en intervalos de un 1% hasta observar movimiento únicamente en la mitad de las ocasiones en que el impulso es suministrado (regla 5/10).

El umbral motor de cada participante era registrado y el procedimiento fue repetido en la segunda sesión sin que se observaran cambios significativos en cada paciente. La media de potencia de salida necesaria para poder determinar el Umbral motor en el grupo de participantes fue del 53% de la potencia total de salida del estimulador.

Tabla 4 Registros de potencia de salida del equipo necesaria para determinar el umbral motor

No.	Edad	Sexo	% Potencia Salida (1° Sesión)	% Potencia Salida (2° Sesión)
1	24	F	55%	55%
2	24	F	50%	50%
3	31	M	48%	45%
4	38	F	59%	57%
5	31	M	48%	50%
6	26	M	55%	53%
7	24	M	61%	60%
8	22	M	50%	51%
9	30	F	49%	49%
10	25	F	52%	53%

La DLPFC izquierda fue ubicada mediante el sistema de localización Beam F3 [45], este programa utiliza tres medidas anatómicas del cráneo de la persona para localizar la position F3 dada por el sistema 10-20 que corresponden a la DLPFC izquierda.

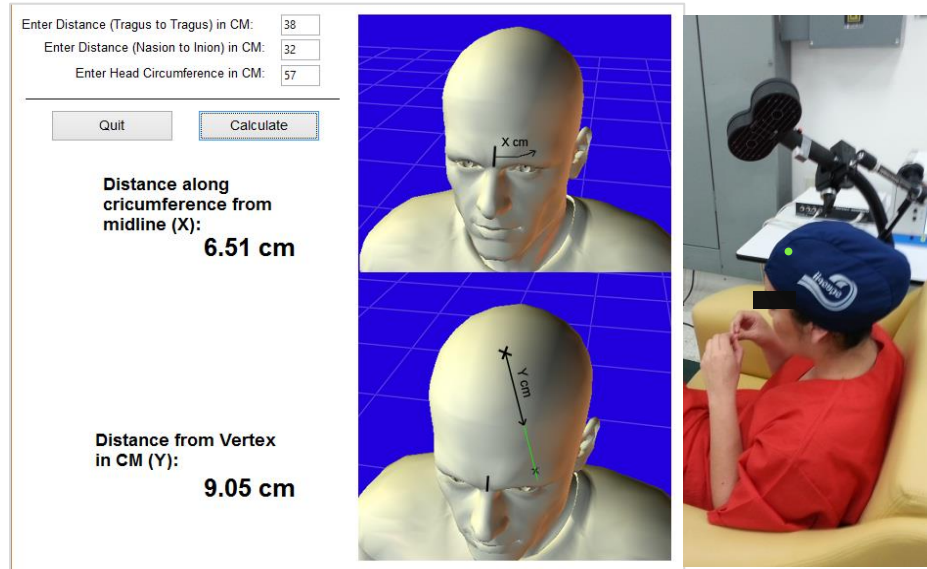


Figura 13 Captura de pantalla de la suite F3 y localización de la DLPFC izquierda en participante.

La suite Beam F3 toma en cuenta tres medidas anatómicas: Distancia Tragus-tragus (cm), Distancia Nasion-Inión(cm) y Circunferencia de la cabeza (cm) para calcular dos distancias (x, y) utilizadas para localizar la corteza dLPFC izquierda en el paciente.

4.3.2 Pretratamiento de Priming

La primera etapa de estimulación corresponde al protocolo de Priming, el cual fue aplicado sobre la DLPFC izquierda antes de la secuencia de estimulación de baja frecuencia. Lo dosis de priming consistió en EMTr a 6Hz conformada por 20 trenes de pulso con una duración de 5 segundos y separados por una pausa de 25 segundos para un total de 600 pulsos. La intensidad de la estimulación fue fijada al 90% del umbral motor de cada sujeto.

4.3.3 Estimulación

Seguida de la aplicación del priming, se llevaron a cabo los protocolos EMTr de baja frecuencia (ver Figura 14) aplicada a la DLPFC izquierda:

Activa - Se aplicó un tren de pulsos a una frecuencia de 1 Hz durante 20 minutos (1200 pulsos en total) utilizando una intensidad correspondiente al 110% del umbral motor del individuo.

Sham - La EMTr fue llevada a cabo de la misma manera que la estimulación activa, utilizando parámetros y tiempos idénticos pero variando únicamente la posición de la bobina, esta vez a un ala y 90°. Esta configuración genera artefactos acústicos y sensaciones comparables con la estimulación activa sin generar efectos en la corteza cerebral mayores al 25% de la estimulación verdadera [46]. Cabe señalar que en la sesión de sham, el priming fue realizado utilizando de igual manera la posición 1-ala 90°.

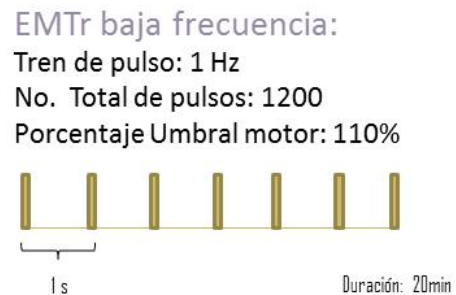
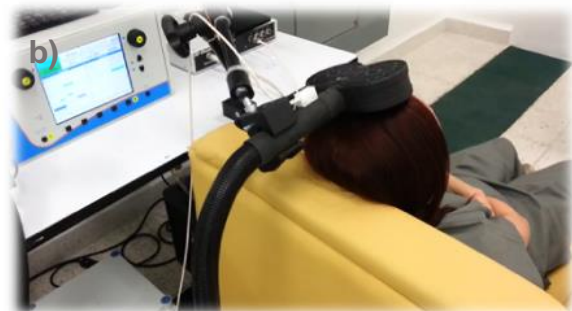
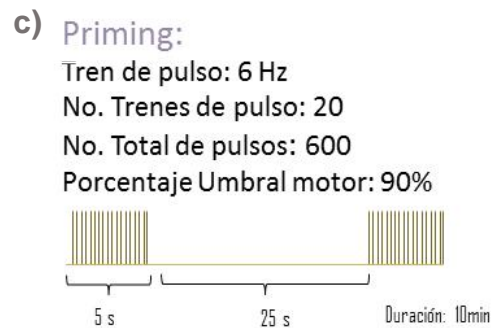
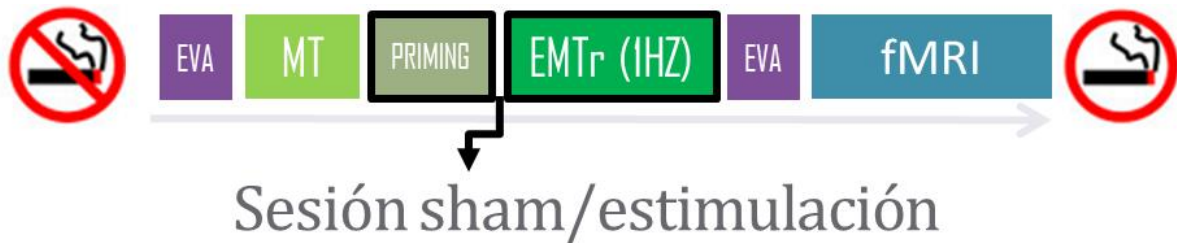


Figura 14 Posicionamiento de la bobina de estimulación

a) Sesión de estimulación Sham con bobina en posición 1 ala-90° b) Sesión de estimulación Activa, bobina posicionado sobre la corteza dorsolateral prefrontal izquierda c) Protocolos de estimulación utilizados. EVA: Escala Visual Analógica; MT: Umbral Motor; EMTr Estimulación Magnética Transcraneal Repetitiva; fMRI: Imagenología por Resonancia Magnética Funcional.

Seguido de la estimulación, un segundo test EVA fue aplicado de igual forma que al inicio de la sesión. Exceptuando a un sujeto que aseguró presentar un ligero mareo luego de la estimulación, los participantes toleraron de forma satisfactoria el tratamiento de EMT.

4.4. Protocolo de fMRI

Luego de completar la evaluación los participantes pasaron al cuarto de MRI, donde se dispusieron sobre la cama del escáner y se le colocaron audífonos para minimizar el ruido del equipo y necesarios para la comunicación con el cuarto de control

4.4.1 Parámetros de adquisición

La adquisición de imágenes se llevó a cabo en un equipo Philips Achieva de 3.0 Teslas. La señal BOLD fue adquirida usando un secuencia GE echo-planar imaging (EPI) (TR=3000ms, TE=30ms, flip angle=90°, FOV=230mm x 108mm, matriz=96x96). Usando una antena de cabeza Sense de 8 elementos, la cual posee un diseño abierto optimizado para estudios BOLD que reduce el efecto claustrofóbico, se adquirieron 338 imágenes continuas, cada imagen consistió de 27 rebanadas sin espacios con un grosor de 4mm orientadas de forma paralela a la comisura anterior y posterior. Seguido de las secuencias de fMRI, se efectuó una rutina de adquisición de imágenes anatómicas 3D usando una secuencia fast- SE (Voxel = 1.1x 1.1 x 0.6mm).

4.4.2 Presentación de estímulos

Siguiendo métodos previamente establecidos, un paradigma visual de bloques con un contenido ligado al tabaquismo fue utilizado para inducir el deseo por fumar. Para su ejecución y presentación se utilizó la interfaz gráfica de avanzada del software E-prime 2.0 (www.pstnet.com/eprime.cfm) en coordinación con una dispositivo especial de respuesta basado en una botonera de 2 estados (<http://www.curdes.com>) para la

sincronización de los estímulos con la adquisición de imágenes y el registro de respuestas de cada participante.

Los estímulos visuales constaban de videos relacionados al tabaquismo y videos de actividades neutrales alternándose con pantallas de punto de fijación (Baseline) y una tarea de atención que incluía un cuestionario sobre deseo por fumar y estado de ánimo.

Cada bloque de video tenía una duración de 2 minutos, con una escena distinta cada 12 segundos. Los videos utilizados incluían grabaciones no profesionales con encuadres, situaciones, personas y ambientes muy similares. Las pantallas de punto de fijación tenían una duración de 20 segundos y precedían a todos los bloques de estímulo. La duración total de paradigma es de 17:20 min (ver figura 15).

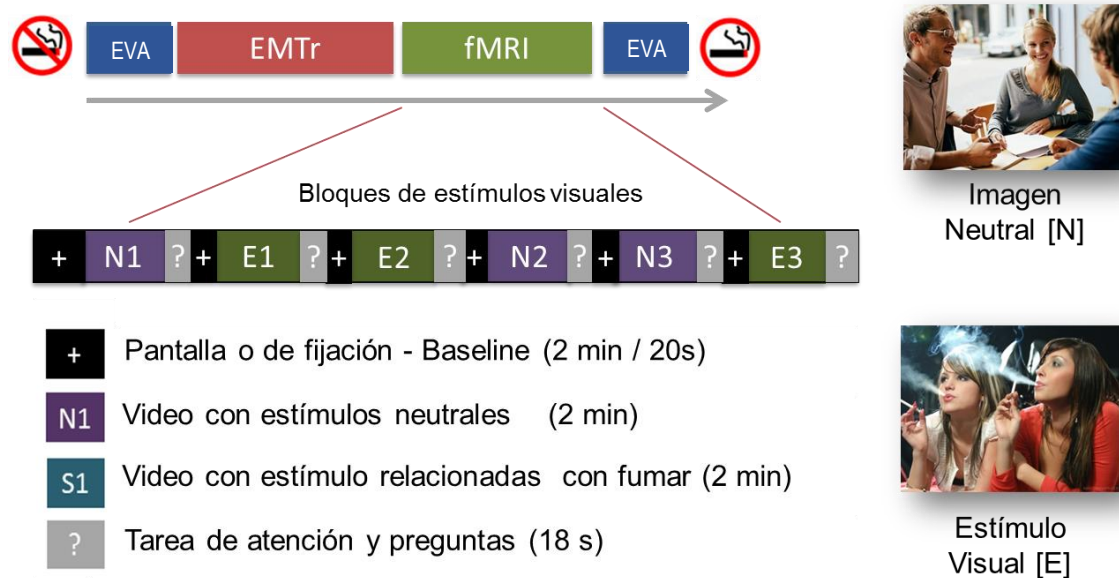


Figura 15 Esquemático del paradigma de bloques utilizado.

El paradigma fue desplegado en una pantalla segura para fMRI (Cambridge Research Systems, BoldScreen) localizada en la parte posterior al escáner, la pantalla podían ser vista a través de un espejo montado sobre la antena de resonancia.

4.4.3 Análisis de las imágenes

Las adquisiciones fueron pre-procesadas y analizadas utilizando el software SPM 8 (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm):

4.4.3.1 Pre-procesamiento:

Una vez obtenidas los 338 volúmenes de imágenes de la secuencia de fMRI, las imágenes DICOM fueron convertidas a formato NIFTI utilizando la suite MRIconvert (<http://lcnj.uoregon.edu>) para su pre-procesamiento, el cual consiste de:

- 1) Realineado: Este proceso corrige los movimientos a través y dentro de la sesión década individuo. Se consideran desplazamientos aceptables cuando no son mayores a 6mm. Las imágenes fueron realineadas y reorientadas al primer volumen.
- 2) Normalizado: En este paso se traslada las imágenes del sujeto a un espacio estándar basado en un plantilla MNI, en este caso usando una EPI proporcionada por SPM.
- 3) Suavizado: El proceso aplica un filtro de suavizado a las imágenes. Esto ayuda a mejorar las diferencias espaciales cuando se trata de análisis de grupo. Se utilizó un kernel Gaussiano de 6 mm para el suavizado espacial.

4.4.3.2 Análisis de primer nivel:

En el análisis de primer nivel, también llamado análisis de efectos fijos, los datos de cada participante fueron procesados utilizando un modelo lineal general con una función de respuesta hemodinámica sintetizada creando las respuestas para cada bloque evaluado en el paradigma (fumar, neutral y tarea de atención). En la matriz de diseño resultante se puede observar el modelado de cada estado además de sus respectivos cofactores de movimiento (véase figura 16a).

Se utilizó el contraste Estímulos Fumar > Estímulos Neutrales (CUE>NEU) para encontrar las zonas de activación correspondientes a la respuesta de los sujetos a estímulos relacionados con el tabaco. En la tabla de contraste se asigna el valor (1) a la respuesta modelada ante los estímulos relacionados con fuma y (-1) a los estímulos neutrales (véase figura 16b). Utilizando este mismo procedimiento, se generó una imagen de contraste para cada uno de los sujetos en ambas sesiones para un análisis posterior de segundo nivel.

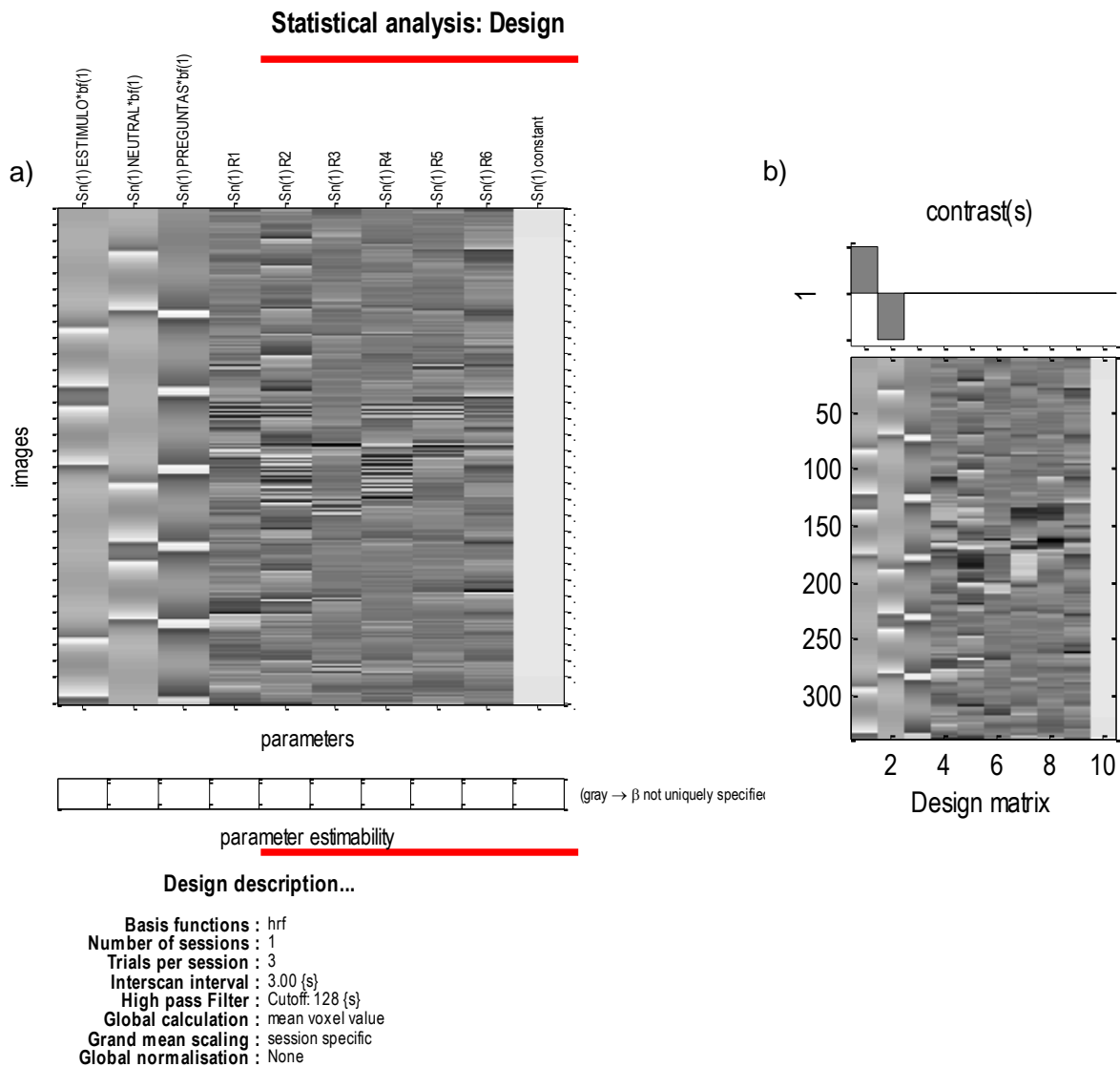


Figura 16 Matriz de diseño para el análisis de cada sujeto

a) Matriz de diseño en primer nivel que modela los 3 estados del paradigma (estímulo, neutro, tarea de atención) y sus respectivas covariables de movimiento b) Contraste utilizado para obtener las activaciones en cada uno de los sujetos (Estímulo 1, neutral -1, tarea de atención 0).

Continuando con el análisis de primer nivel, se generó una segunda matriz que incluía a todos los participantes (n=10) para la evaluación de los efectos intrasujeto en las sesiones de estimulación activa y sham. En esta matriz se incluían las imágenes de todos los sujetos y todas las sesiones necesarias para obtener las diferencias entre los grupos de estimulación activa y sham, utilizando un contraste ACTIVA>SHAM (véase Figura 17b).

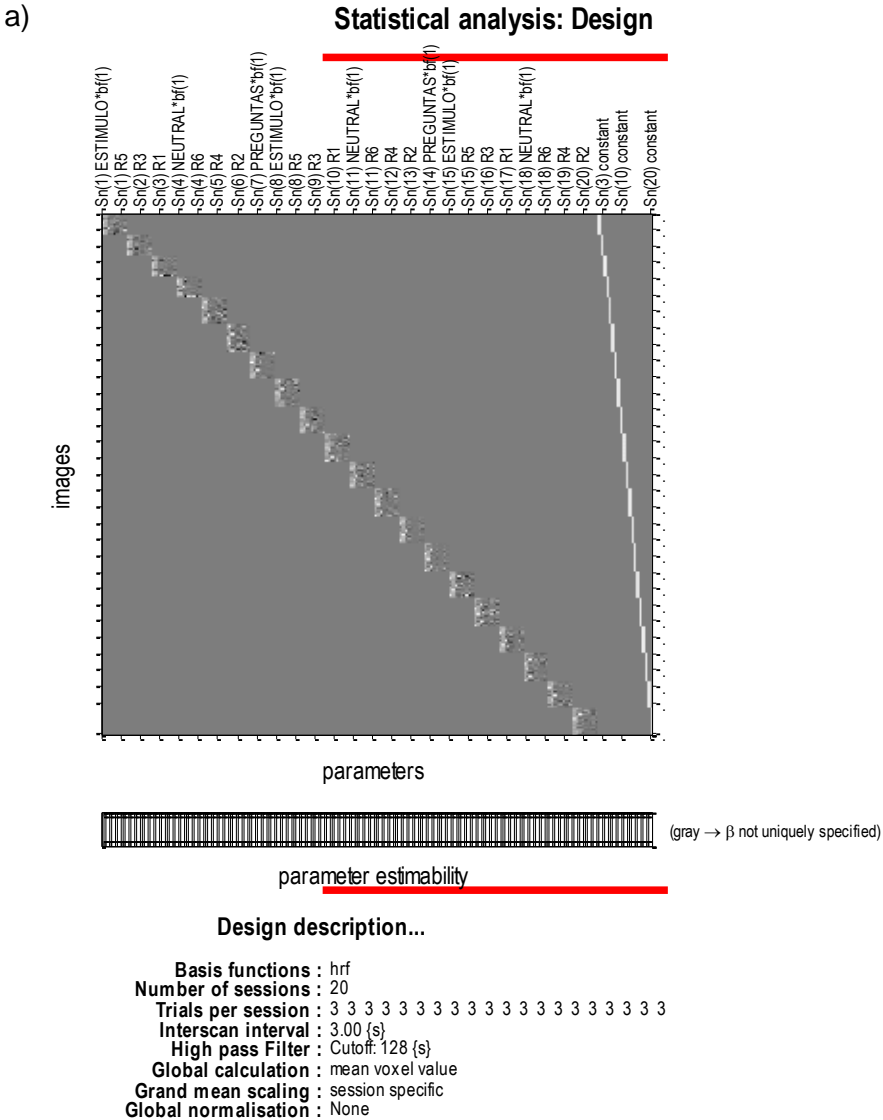


Figura 17 Matriz de análisis de primer nivel (n=10)

Matriz que integra las 20 sesiones (sham y activa) utilizando el modelado del paradigma de 3 estados para cada sujeto y sus respectivas covariables de movimiento.

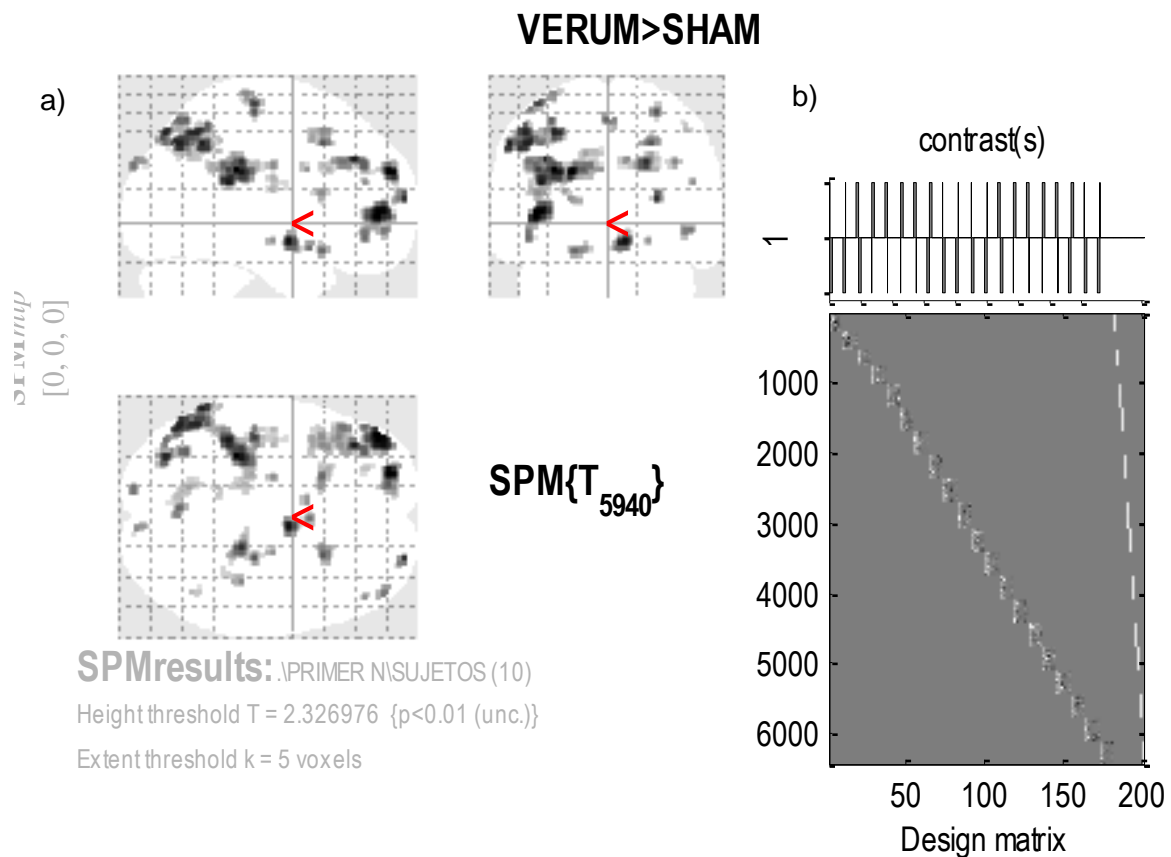


Figura 18 Cerebro de cristal y contraste usado para el análisis de 1° Nivel (n=10)

a) Activaciones derivadas del análisis multisesión contrasta las dos sesiones (activa vs sham) de cada sujeto para determinar las activaciones correspondientes al efecto de la estimulación en un análisis de efectos fijos
 b) Contraste utilizado: Sesión activa Estímulo +1, Neutral -1; Sesión Sham Estímulo -1, Neutral +1.

Este análisis es un primer acercamiento a la posible respuesta neural en el cerebro derivada de la estimulación. Sin embargo, este tipo de análisis utiliza únicamente la variancia intra-sujeto, por lo que sólo se pueden inferir acerca de los sujetos estudiados. Esto resulta práctico si únicamente se desea reportar resultados cualitativos o un caso de estudio del grupo de participantes en específico. Usualmente es necesario poder generar inferencias más amplias o conclusiones acerca de la población en general de la cual procede la muestra del estudio. Para esto es necesario llevar a cabo un análisis de segundo nivel, utilizando las imágenes de contraste generadas en el primer análisis.

4.4.3.3 Análisis de segundo nivel:

Un análisis de segundo nivel, también llamada de efectos aleatorios, incorpora tanto la varianza intra-sujeto (derivada del análisis de primer nivel), como también las diferencias intra-sujeto de cada sesión (derivados del análisis de segundo nivel), cuyo estimador es la justa relación que existe entre los errores intra e inter-sujeto. Esto permite generalizar a la población a la que los sujetos del estudio pertenecen.

El propósito del análisis de efectos aleatorios es encontrar áreas que se activan de la misma forma en todos los sujetos, opuesto a lo que hace un modelo de efectos fijos que proporción las áreas que son activadas “en promedio” a través de todos los sujeto. Esta es una diferencia crucial debido a que un análisis de efectos fijos puede generar resultados significativos cuando uno o dos sujetos tienen activaciones “muy fuertes” a pesar de que otros sujetos no tuvieron ninguna.

Para poder evaluar los resultados inter-sujetos se llevó a cabo un análisis de segundo nivel utilizando las imágenes de contraste de cada sujeto en todas sus sesiones (activa y sham) obtenidas (con*.img) en el análisis de primer nivel.

Una imagen de contraste, comúnmente referida como “con*.img”, resume el efecto de activación para un sujeto en particular. La imagen de contraste representa las imágenes espacialmente distribuidas de la suma ponderada de estimación de parámetros para un contraste en particular, dicho con otras palabras, es una imagen que representa la diferencia en activación de los contrastes (CUE-NEU) y son necesarias al menos dos por paciente (activa y sham).

a) Análisis del grupo de estimulación Sham (2° Nivel)

Utilizando las imágenes de contraste generadas por el análisis de Primer nivel en cada sujeto con el contraste (CUE>NEU) se creó una nueva matriz de análisis de segundo nivel utilizando una prueba T para obtener la respuesta común a los 10 participantes al ser expuestos a los estímulos visuales luego de una sesión EMTr simulada (Sham).

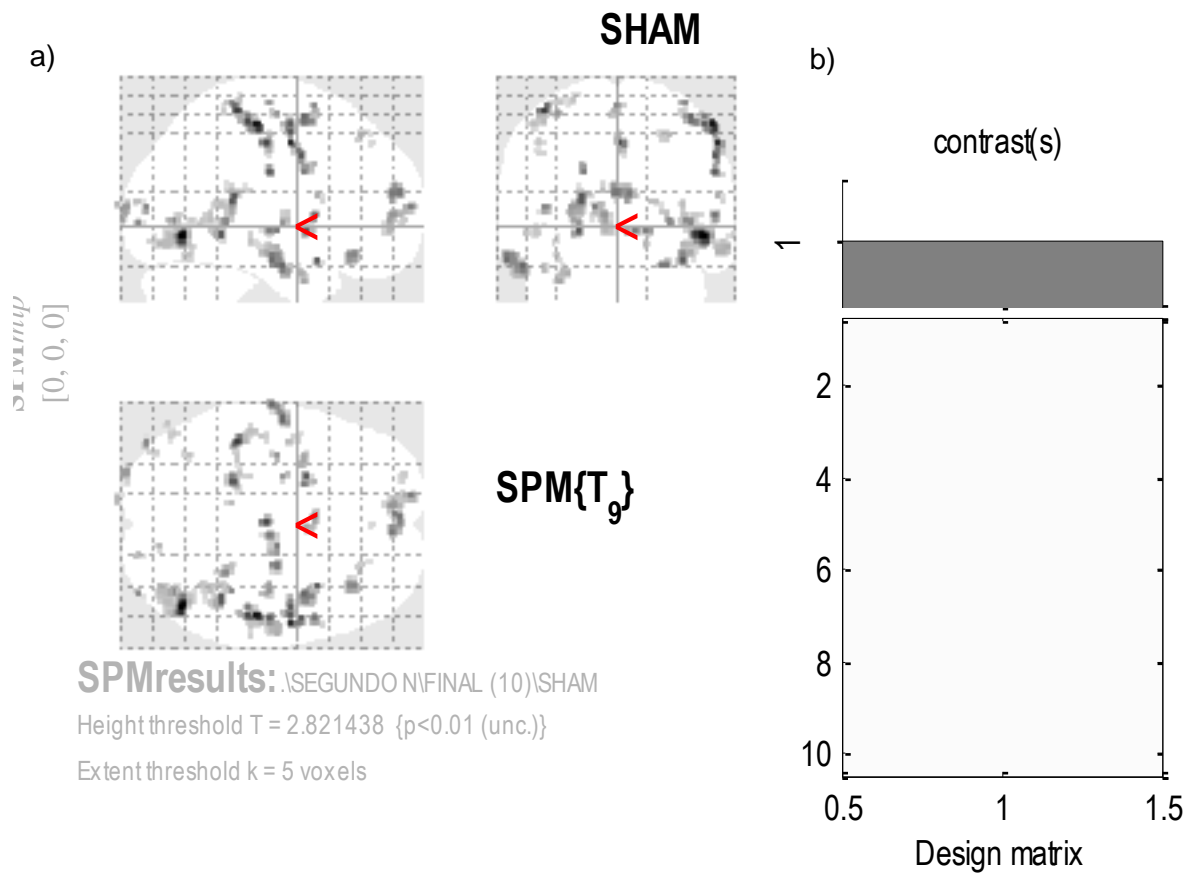


Figura 19 Cerebro de cristal y contraste utilizado en el análisis 2° Nivel sesión Sham (n=10)

a) En esta imagen se muestran las activaciones derivadas del análisis de segundo nivel (efectos aleatorios) realizado al grupo de estimulación Sham (prueba T, n=10) b) Contraste utilizado para el análisis (+1)

b) Análisis del grupo de estimulación activa (2° Sesión)

Utilizando las imágenes de contraste generadas por el análisis de Primer nivel en cada sujeto con el contraste (CUE>NEU) se creó una nueva matriz de análisis de segundo nivel utilizando una prueba T para obtener la respuesta común a los 10 participantes al ser expuestos a los estímulos visuales luego de una sesión activa de EMTr .

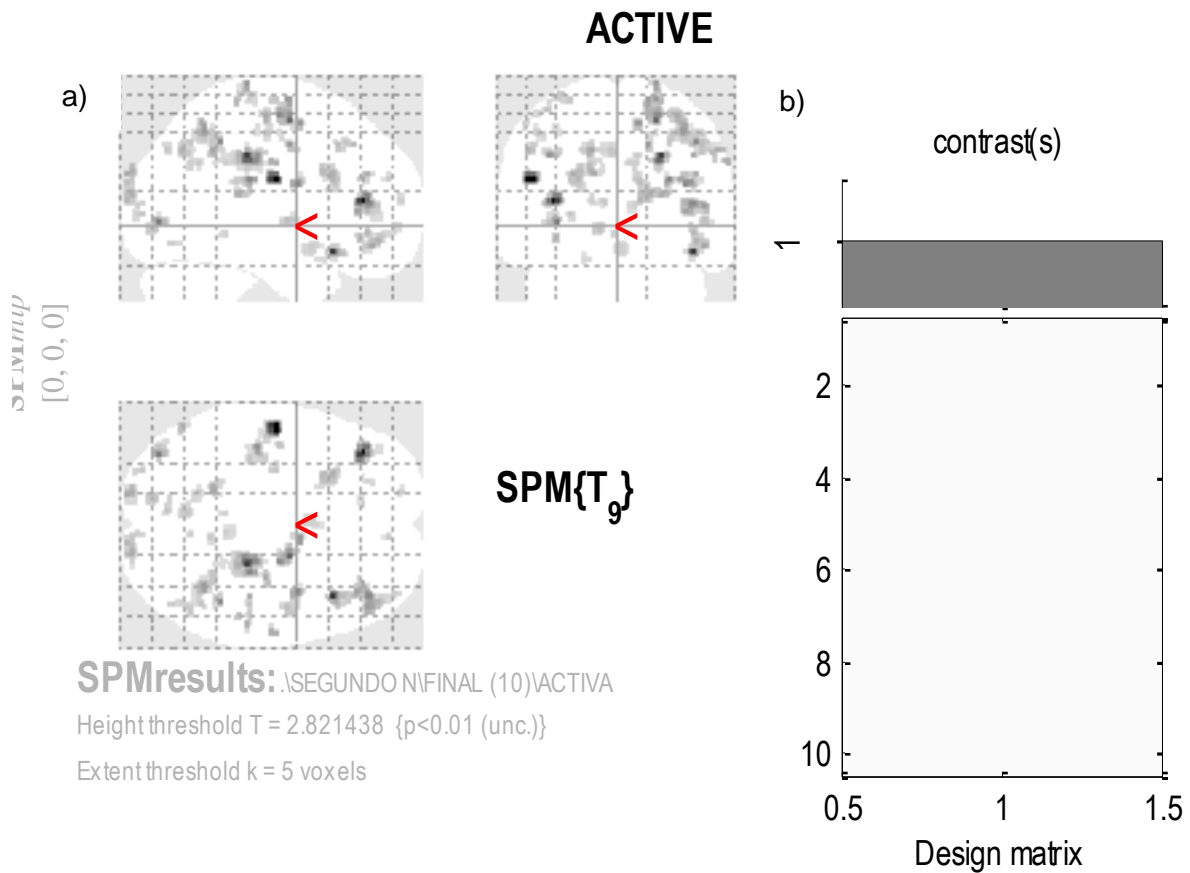


Figura 20 Cerebro de cristal y contraste utilizado en el análisis 2° Nivel sesión Activa (n=10)

a) En esta imagen se muestran las activaciones derivadas del análisis de segundo nivel (efectos aleatorios) realizado al grupo de estimulación Activa (prueba T, n=10) b) Contraste utilizado para el análisis (+1)

c) Análisis de Efectos globales (2° Nivel)

Utilizando todas las imágenes de contraste generadas por el análisis de Primer nivel en cada sujeto con el contraste (CUE>NEU) se creó una nueva matriz de análisis de segundo nivel usando una prueba T con los contrastes de todos los sujetos en ambas sesiones para obtener la respuesta global común a los 10 participantes que llevaron a cabo el paradigma visual luego de las sesiones de EMTr (sham y activa).

Si bien este análisis no es una comparación de interés, resulta de utilidad para identificar regiones que muestran una reactividad a los estímulos visuales relacionados con el tabaco y que análisis posteriores podrían examinar estas regiones buscando un efecto por grupo o condición.

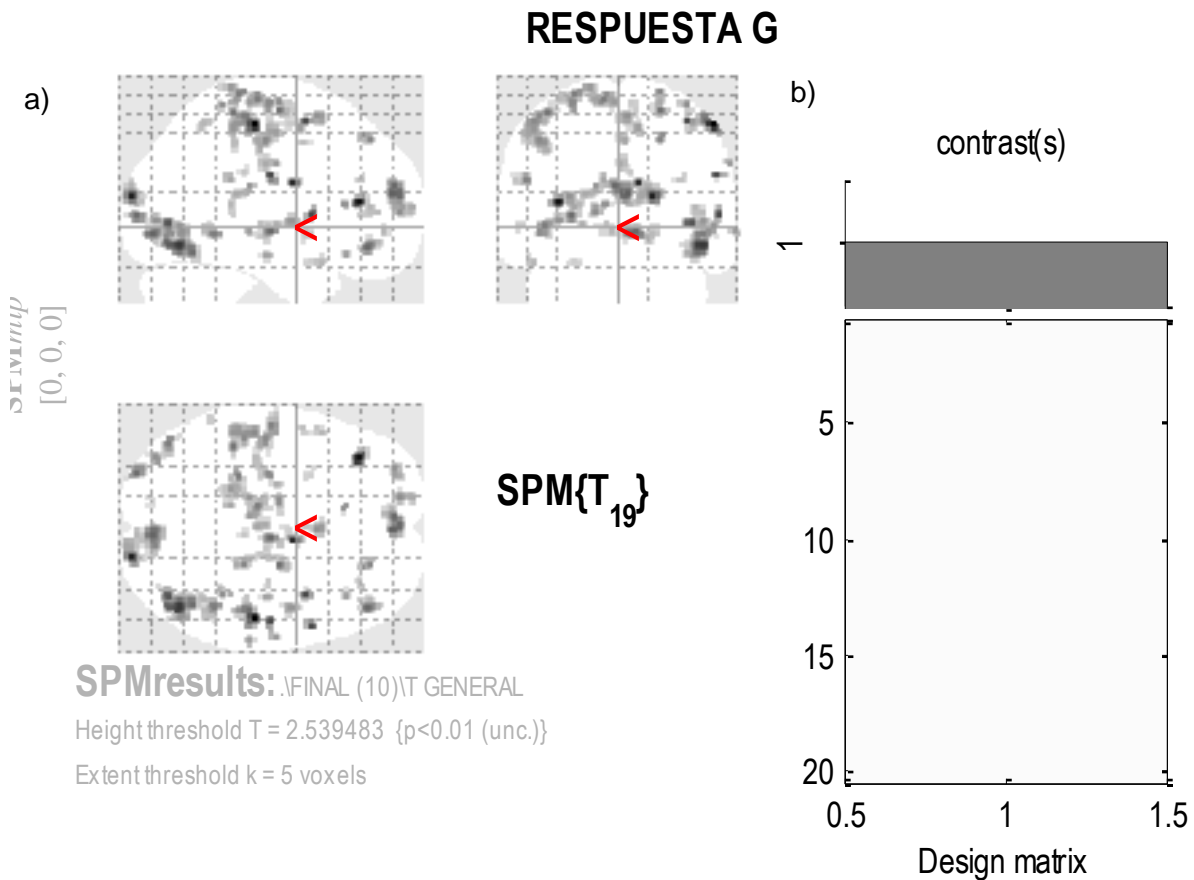


Figura 21 Cerebro de cristal y contraste utilizado en el análisis 2º Nivel de efectos Globales (n=20)

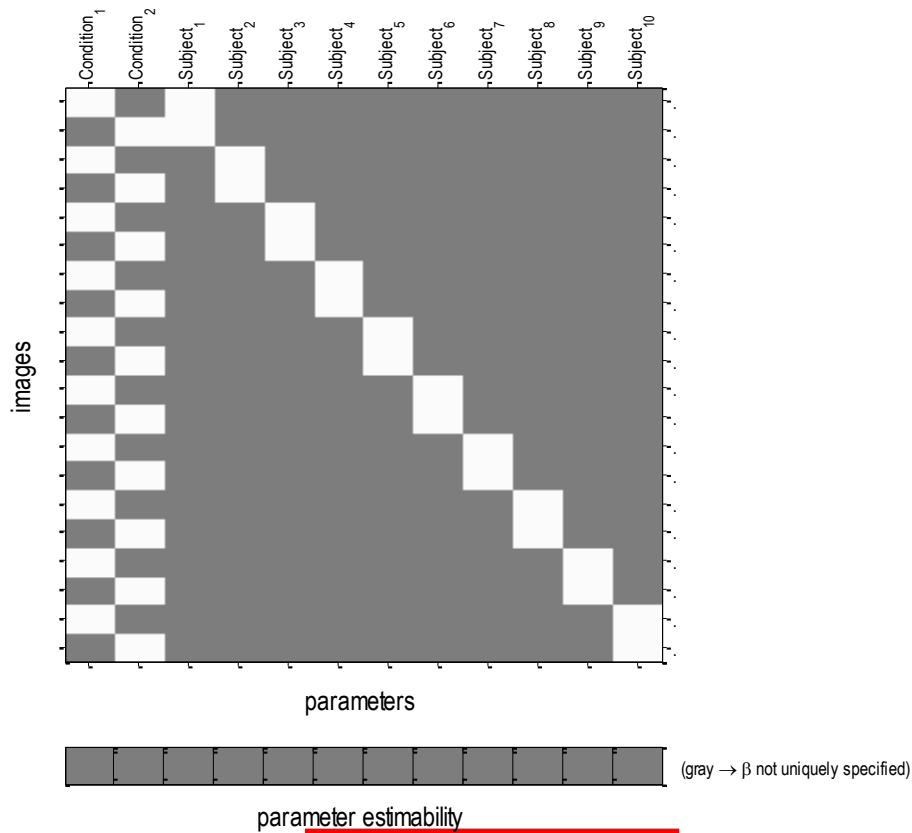
a) Activaciones derivadas del análisis de efectos aleatorios realizado para conocer los efectos globales del estudio utilizando una Prueba T que reúne las imágenes de contraste de todos los sujetos y todas sus sesiones b) Contraste utilizado usado en el análisis correspondiente

d) Análisis de los efectos de la estimulación (Prueba T pareada)

Para poder distinguir el efecto de la estimulación se utilizó una prueba T pareada en un modelo de análisis de 2º nivel. Se seleccionaron los contrastes (CUE>NEU) previamente generados, utilizando únicamente pares de imágenes correspondientes a las con*img. de

la sesión activa y sham (ver fig.21a). Una vez cargados todas las imágenes de contraste a primer nivel, se generó una nueva matriz de diseño, esta vez conformada por las sesiones activas y sham de los diez sujetos. Se utilizó un contraste del tipo (1, -1) para encontrar la diferencia entre medias de los dos grupos (ver figura 21b).

Statistical analysis: Design



Design description...

Design : Paired t-test
Global calculation : omit
Grand mean scaling : <no grand Mean scaling>
Global normalisation : <no global normalisation>
Parameters : 2 condition, +0 covariate, +10 block, +0 nuisance
 12 total, having 11 degrees of freedom
 leaving 9 degrees of freedom from 20 images

Figura 22 Matriz de análisis de segundo nivel para prueba T pareada (n=10)

Matriz de diseño del análisis de segundo nivel utilizando un Prueba T pareada entre los grupos Sham y Activa.

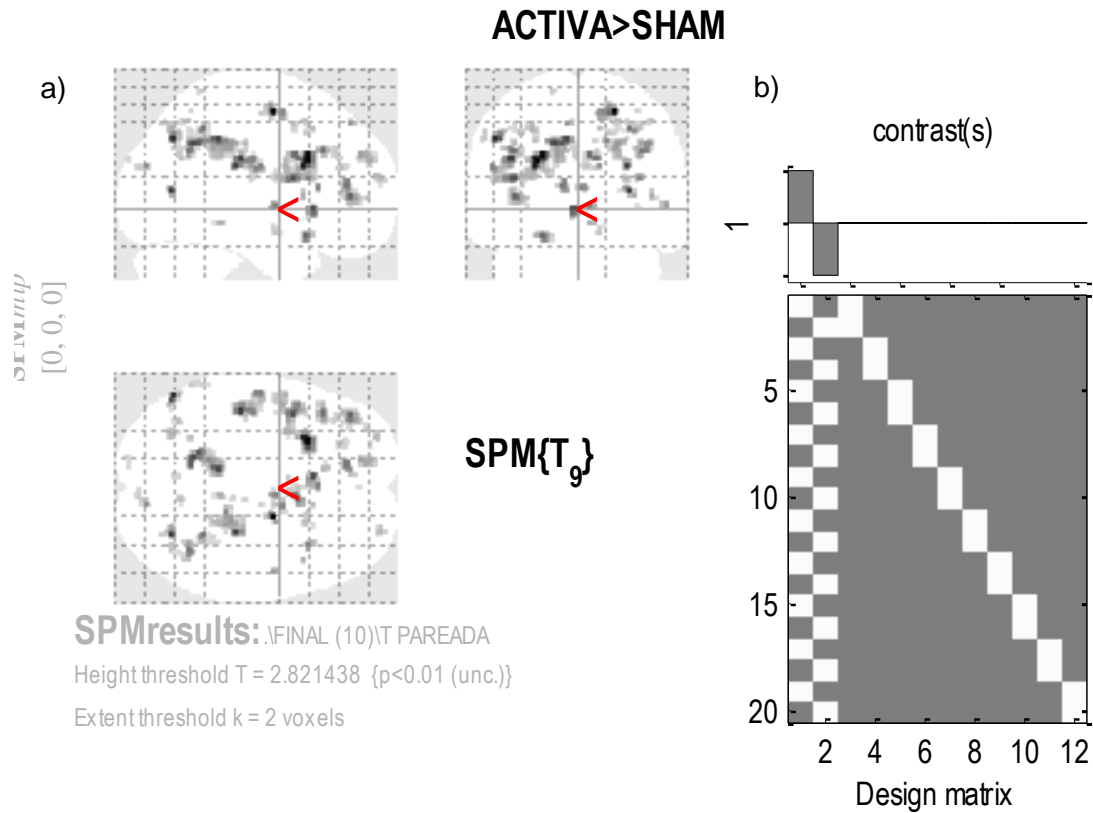


Figura 23 Cerebro de cristal y contraste utilizado en el análisis 2° Nivel final (n=20)

a) Activaciones derivadas del análisis de efectos aleatorios realizado para conocer el efecto de la EMTr mediante una Prueba T pareada que contrasta los grupos Activa y Sham b) Contraste utilizado para la prueba (Sesión Activa +1, Sesión sham -1)

Las activaciones registradas en el análisis de segundo nivel, donde se contrastan las sesiones Activa y Sham, resultan ser el más importante de todos los análisis realizados. Este nos permite conocer el efecto real de la estimulación en los participantes a través de evidenciar las diferencias de activación entre ambos grupos cuando éstos se someten al paradigma visual y nos permite inferir acerca de la población de la cual procede nuestra muestra.

4.4.4 Resumen del método de análisis de las imágenes

Con el fin de mejorar la comprensión de los diversos niveles de procesamiento y análisis de las imágenes previas (necesarios para la obtención del contraste final que compara los

grupos de control y estimulación), se ilustra a continuación la relación y propiedades que guarda cada nivel:

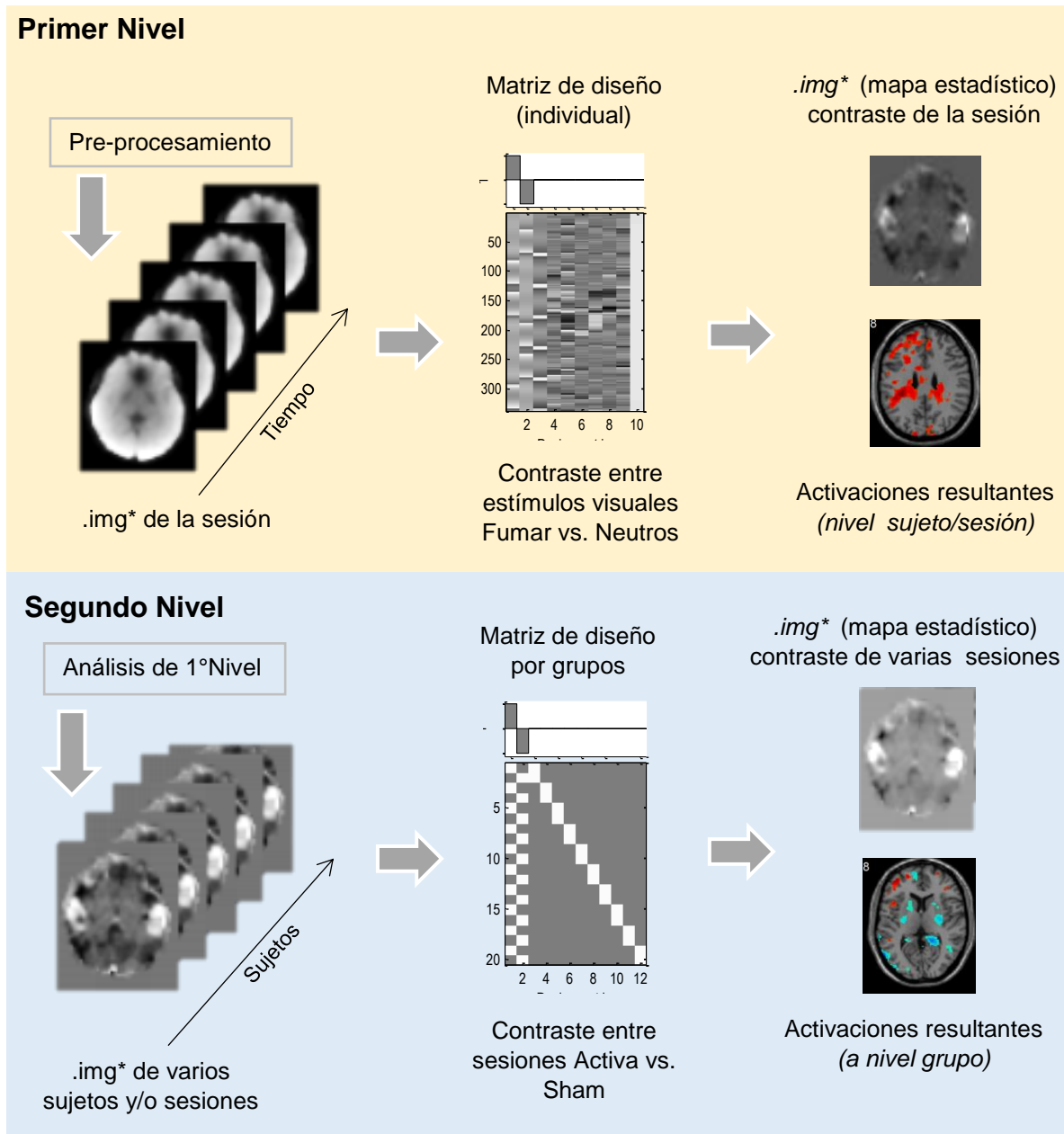


Figura 24 Resumen metodológico de los distintos niveles de análisis de las imágenes

En este esquema se resumen las entradas, proceso y salidas para cada nivel de análisis llevados a cabo hasta las activaciones finales a nivel grupo relacionadas con la estimulación.

Una vez que las imágenes de cada sujeto son pre-procesadas se genera una matriz de análisis de primer nivel (también llamado de efectos fijos), en esta matriz se incluyen los diferentes estímulos o “estados” modelados en el paradigma y sus respectivas co-variables de movimiento, el contraste se efectúa entre los “estados” modelados contrarios (fumar vs. neutral). El resultado de este análisis es un mapa estadístico o imagen de contraste (*.img) de la cual pueden obtenerse las activaciones relacionadas con la comparación de estímulos utilizada de cada sujeto o sesión.

El análisis de segundo nivel (o de efectos aleatorios) utiliza las imágenes de contraste (*.img) de cada sujeto para poder formar una nueva matriz en la que se comparan los diferentes grupos que conforman el experimento (activa vs. sham). Existen diferentes tipos de análisis de 2º nivel que van desde pruebas T simples hasta pruebas ANOVA. En este caso, se optó por una prueba T pareada debido a que se cuentan con dos sesiones de cada sujeto. El resultado de este análisis es un mapa estadístico (*.img) que revela las diferencias entre los grupos contrastados y que pueden atribuirse al efecto de la variable estudiada (estimulación).

Adicionalmente se llevaron a cabo otros tipos de análisis que pueden complementar a la prueba principal y son el análisis de grupo de primer nivel y el análisis de efectos globales de segundo nivel, los dos utilizan todas las imágenes y contrastes generados en el experimento y sus alcances se discuten en la sección de resultados.

4.4.5 Evaluaciones Visuales Análogas

Para la evaluación del efecto subjetivo de la EMTr en el deseo por fumar y el consumo de cigarrillos, se aplicaron una serie de Test con Escalas Visuales Análogas (EVA) antes e inmediatamente después de cada sesión de sesión de EMTr. Cada una de estas pruebas consiste un arreglo unidimensional de líneas analógicas de 100mm de largo, la cual representa la continuación de la experiencia subjetiva del participante con respecto a un determinado sentimiento en el momento de la evaluación. Contiene únicamente dos frases de anclaje en la línea: “Nada en absoluto” y “Máximo sentimiento posible” a cada lado de la línea. Se le pide al paciente que simplemente haga una marca en la línea para indicar la intensidad del sentimiento evaluado. La Escala Visual Analógica se determina midiendo en milímetros desde la izquierda hasta el final de la línea, que es el punto de

que el paciente marca. Cuanto mayor sea el valor obtenido en la escala, mayor es la intensidad del sentimiento manifestado por el paciente [47].

Utilizando estas escalas se evaluó la experiencia subjetiva de cada paciente, además de las ganas por fumar, se evaluaron otros sentimientos que incluyen: ansiedad, tristeza, incomodidad y alegría (véase Anexo III). Cabe mencionar que en la tarea de atención del paradigma visual se incluyó una tercer evaluación del deseo por fumar y estado de ánimo que será utilizado en análisis post-hoc para la correlación de variables psico-sociales con las activaciones e imágenes obtenidas.

4.4.6 Consumo de cigarrillos

A lo largo de todo el experimento, se les pidió a los participantes llevar un registro diario de los cigarros fumados durante cada día, en un periodo de una semana antes y después de cada sesión, para poder evaluar los efectos a largo plazo que la EMT pudiera tener en sus hábitos de fumar. Los datos del diario fueron capturados por cada sujeto mediante un formulario online¹ una vez hubieran llevado a cabo las dos sesiones de estimulación.

¹ https://docs.google.com/forms/d/1hPcK0zs9eUtgj5JmvS2x7X9ZxJ_gB47ZpERMZbgUusE/viewform?usp=send_form

5 RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados de cada uno de los análisis establecidos en la sección anterior (conservando el orden de ejecución), cada reporte detalla las activaciones positivas y negativas más significativas así como la estructura anatómica en la que se encontraron junto con una imagen de activaciones sobrepuesta en una plantilla anatómica en T2 con una vista de secciones en corte coronal. En el caso de los análisis de 2° nivel se incluye un render 3D de las activaciones de corteza más significativas y una lista de picos y clusters significativos que puede consultarse en el Anexo IV.

5.1 Análisis de primer nivel:

En este primer procesamiento se utilizó un análisis de cerebro completo ($p=0.001$ sin corrección, Umbral de cluster: 5) para la obtención de las activaciones cerebrales que representan la diferencia entre el grupo de estimulación activa y sham.

Se registraron clusters de activación positivos, relacionados con la sesión activa, la mayoría localizadas en el hemisferio izquierdo, dentro las cuales destacan: el giro frontal inferior ($T= 3.72$), medio ($T=3.51$) y superior ($T= 3.66$), la ínsula ($T=3.53$) y el giro angular ($T = 3.48$) entre otros. En el hemisferio derecho sólo se registraron activaciones en el giro cingulado ($T = 3.38$) y el área extra-nuclear ($T = 3.57$). En cuanto a las áreas funcionales implicadas se registró actividad en las áreas de Brodmann 10, 9 y 40 (véase Anexo IV para conocer la lista de activaciones completa).

En el caso de activaciones negativas o relacionadas con el grupo de control (sham), se registraron activaciones en el hemisferio derecho en estructuras como el surco calcarino ($T= -3.78$), hipocampo ($T= -3.61$) y el giro precentral ($T= -3.41$), mientras que en el hemisferio izquierdo sólo se registró un clúster de activación en el giro temporal medio ($T= -3.77$). Las áreas funcionales involucradas corresponden a las AB 19 y 6.

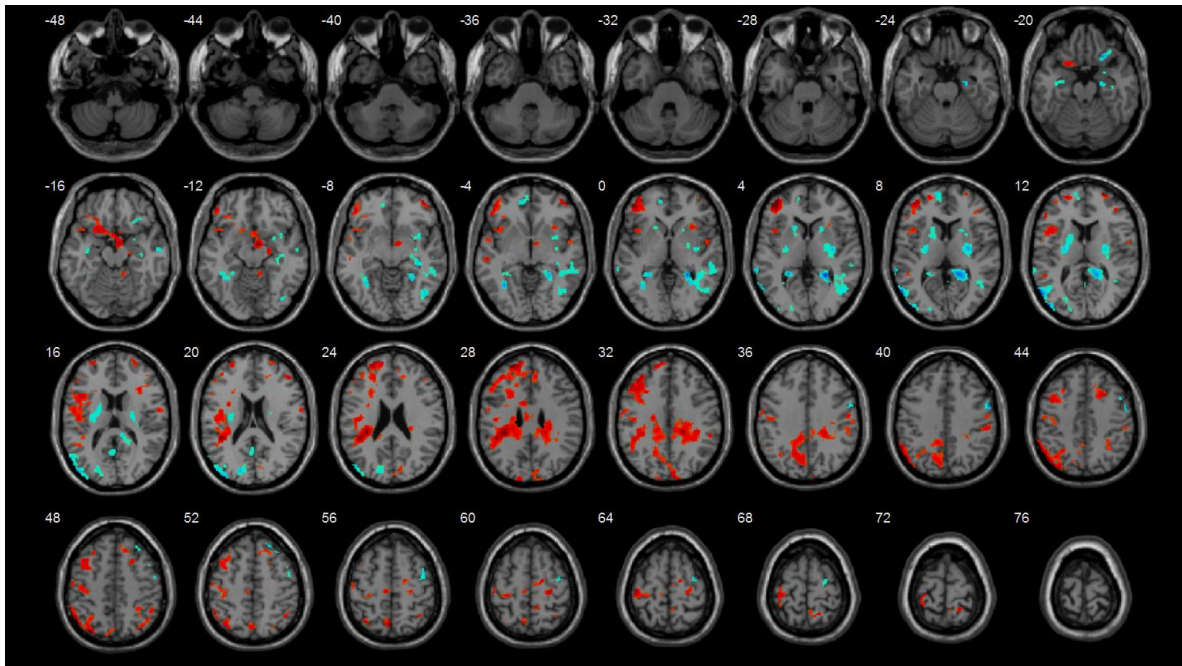


Figura 25 Activaciones en un análisis de 1° Nivel Active>Sham (n=10)

Activaciones relacionadas con la estimulación activa (Rojo) y Activaciones relacionadas con la sesión de control sham (Azul) en un análisis de primer nivel ($p=0.05$ unc. Voxel threshold: 28).

5.2 Análisis de segundo nivel:

a) Análisis del grupo de estimulación Sham (2° Nivel)

Utilizando un análisis de cerebro completo (valor $p=0.001$ sin corrección, Umbral de cluster: 3) se encontraron activaciones en el hemisferio derecho localizadas en el Giro Occipital medio ($T=6.78$), giro post-central ($T=6.33$), giro pre-central ($T=5.95$), ventrículo lateral ($T=5.15$) y lóbulo temporal ($T=5.12$) entre otras. En el caso del hemisferio izquierdo, se registraron clústers de activación en el giro post-central ($T=5.64$) y el giro cingular medio ($T=5.4$) localizado en el espacio inter-hemisférico (véase figura 19).

En el lado de las activaciones negativas, relacionadas con los estímulos neutrales, destacan el área sub-lobar izquierda (-7.57), el giro para-hipocampal derecho (-7.23) y el precúneo izquierdo (-7.19) entre otras (véase figura 20c)

En cuanto las áreas funcionales que registraron actividad en los clusters anteriormente mencionados se encuentran las áreas de Brodmann 37, 2, 6, 20 y 9 para las activaciones

positivas y las AB 5 y 19 para las activaciones negativas (ver anexo IV para tabla completa de activaciones).

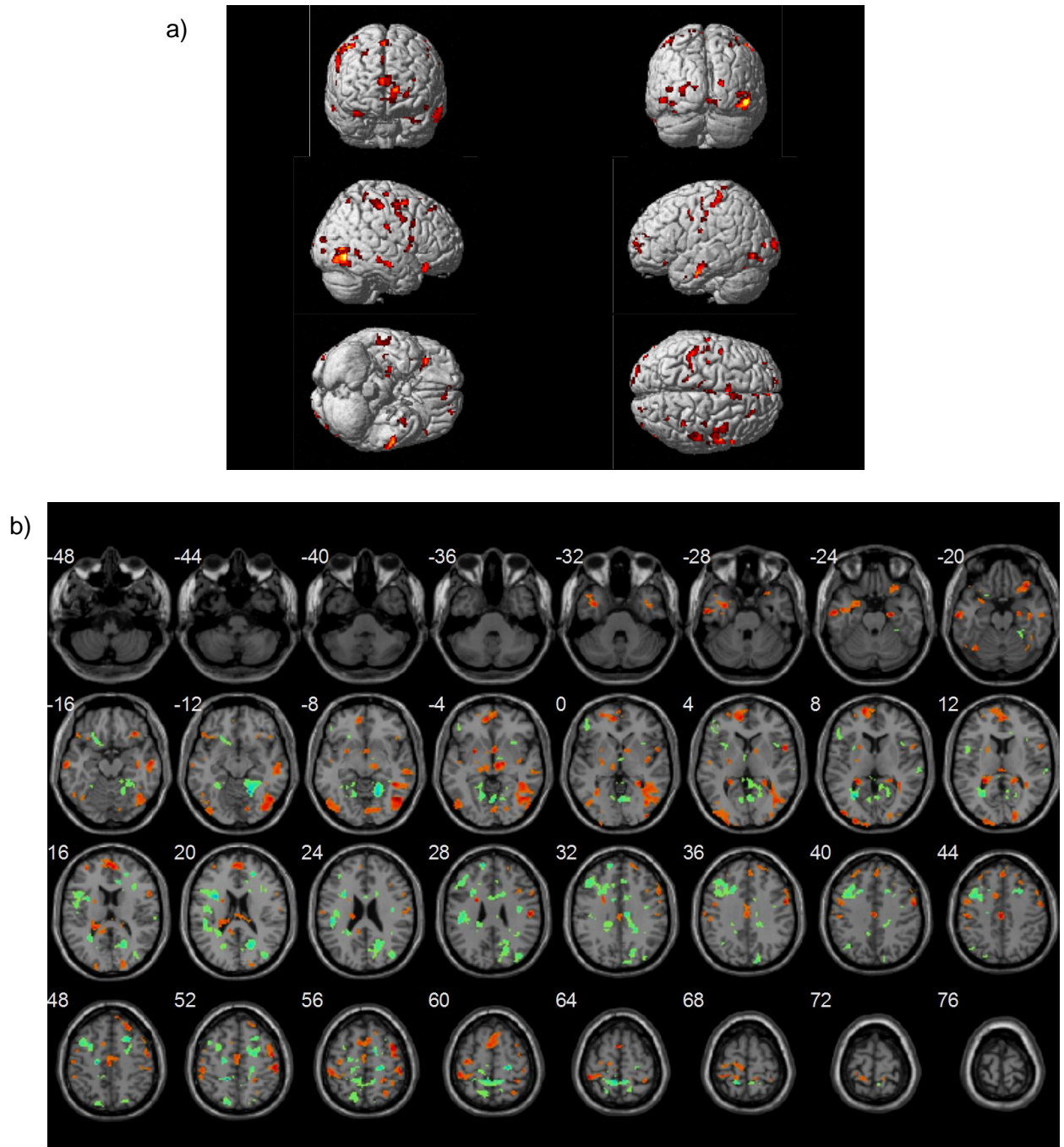


Figura 26 Activaciones en un análisis de 2° Nivel Sham (n=10)

- a) Render con activaciones positivas del análisis de 2° Nivel de la sesión Sham (n=10) $p=0.002$ unc.
- b) Activaciones relacionadas con los estímulos visuales con fumar en el grupo de fumadores en la sesión sham. Activaciones positivas- estímulos fumadores (rojo) negativas- estímulos neutrales (verde). Prueba T ($p=0.05$ unc. Voxel threshold: 28).

b) Análisis del grupo de estimulación activa (2° Nivel)

Utilizando un análisis de cerebro completo (valor $p=0.001$ sin corrección, Umbral de cluster: 3) se registraron activaciones en ambos hemisferios entre la que destacan el Giro Post-central ($T=8.97$), Giro Frontal Inferior ($T=8.62$) en el hemisferio izquierdo, Giro Frontal inferior ($T=7.36$), Giro cingulado ($T=7.23$) y Lóbulo Inferio-Parietal ($T=6.15$) correspondientes al hemisferio derecho (véase figura 21)

En cuanto a activaciones negativas, relacionadas con los estímulos neutrales, se registró activación en el hemisferio izquierdo del Giro Fusiforme ($T= -7.96$), Giro parahipocampal ($T=-6.42$) y en el Precúneo ($T=-6.40$) del hemisferio derecho.

En cuanto a áreas funcionales que mostraron actividad se encuentran las AB 46, 10, 47, 40 y 6 para las activaciones positivas y las AB 37, 20, 19 y 7 para las activaciones negativas (Véase Anexo IV para la lista de activaciones completas).

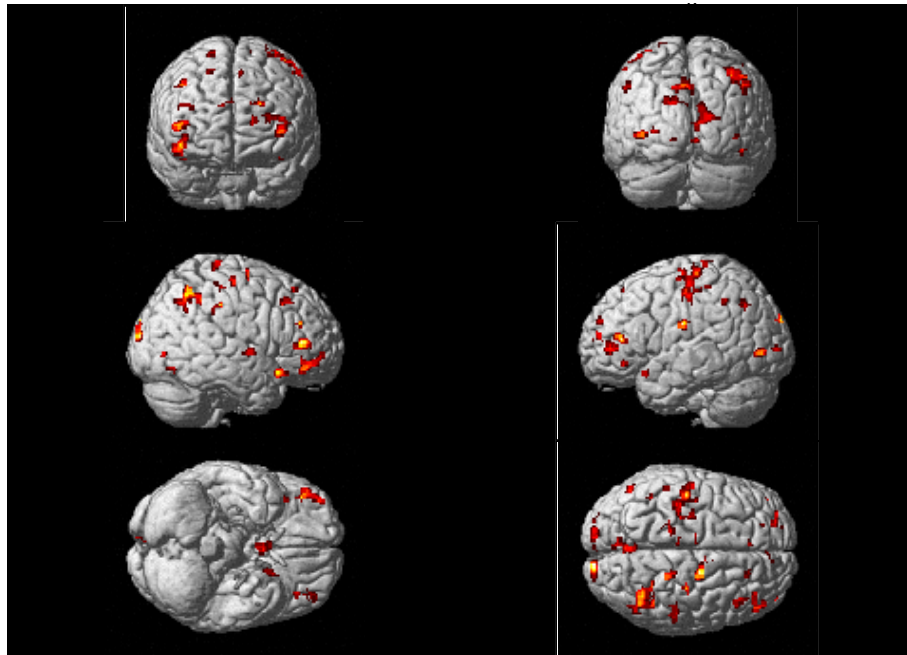


Figura 27 Render con activaciones positivas del análisis de 2° Nivel del grupo estimulación Activa (n=10) $p=0.02$ unc Umbral de vóxel =10.

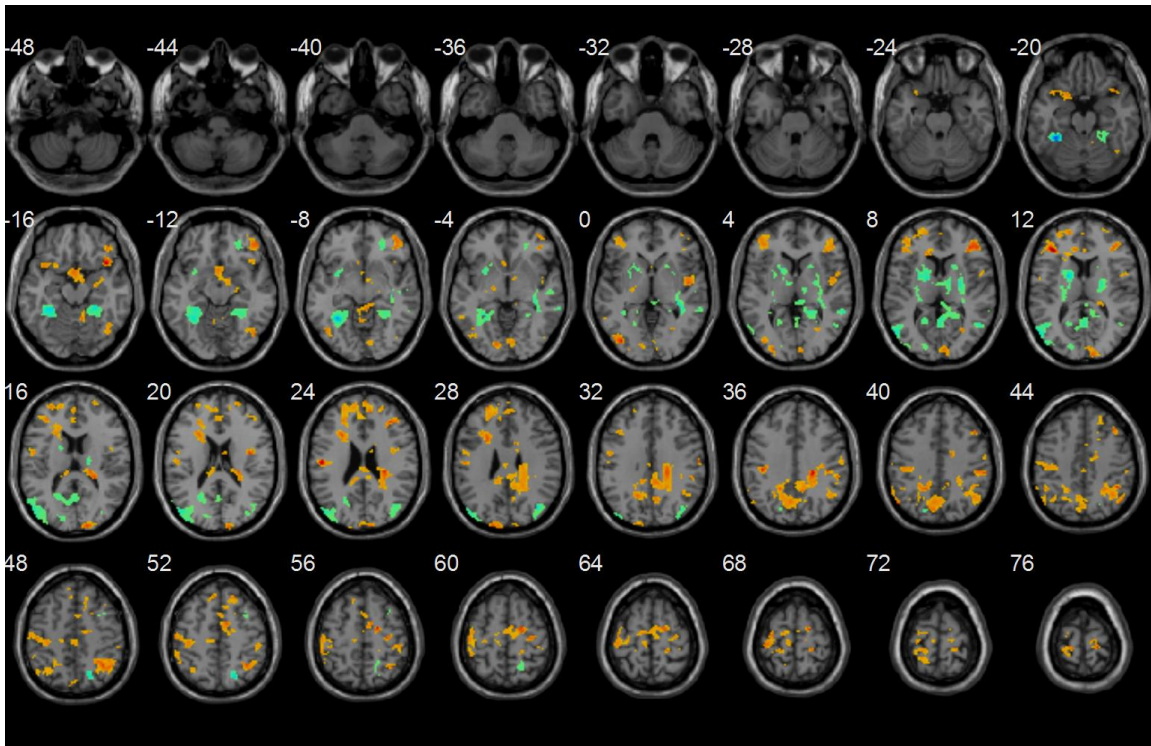


Figura 28 Activaciones en un análisis de 2° Nivel de la sesión Activa (n=10)

Activaciones relacionadas con los estímulos visuales con fumar en el grupo de fumadores en la sesión activa: Activaciones positivas (rojo-naranja) negativas (verde). Prueba T ($p=0.05$ unc. Voxel threshold: 28)

c) Análisis de Efectos globales (2° Nivel)

Las activaciones positivas (relacionados con estímulos fumadores) más significativas se encontraron en su mayoría en el hemisferio derecho: Giro Post-central ($T=5.16$), Cuña ($T=4.7$), Giro occipital medio ($T=4.46$) y giro Post-central ($T=4.25$). En el hemisferio izquierdo encontramos actividad únicamente en el Giro Frontal Inferior ($T=4.89$) Las AB implicadas fueron 2, 18, 10 y 47 (véase figura 27).

En el lado de las activaciones negativas, relacionadas con estímulos neutrales, se encontró actividad en ambos lados del Giro hipocampal ($T= -4.45$ der; -4.33 izq.) y el Giro angular derecho ($T= -4.33$). En cuanto a AB se refiere, hubo activación en 37, 39 y 19 (ver Anexo IV para la lista completa de activaciones)

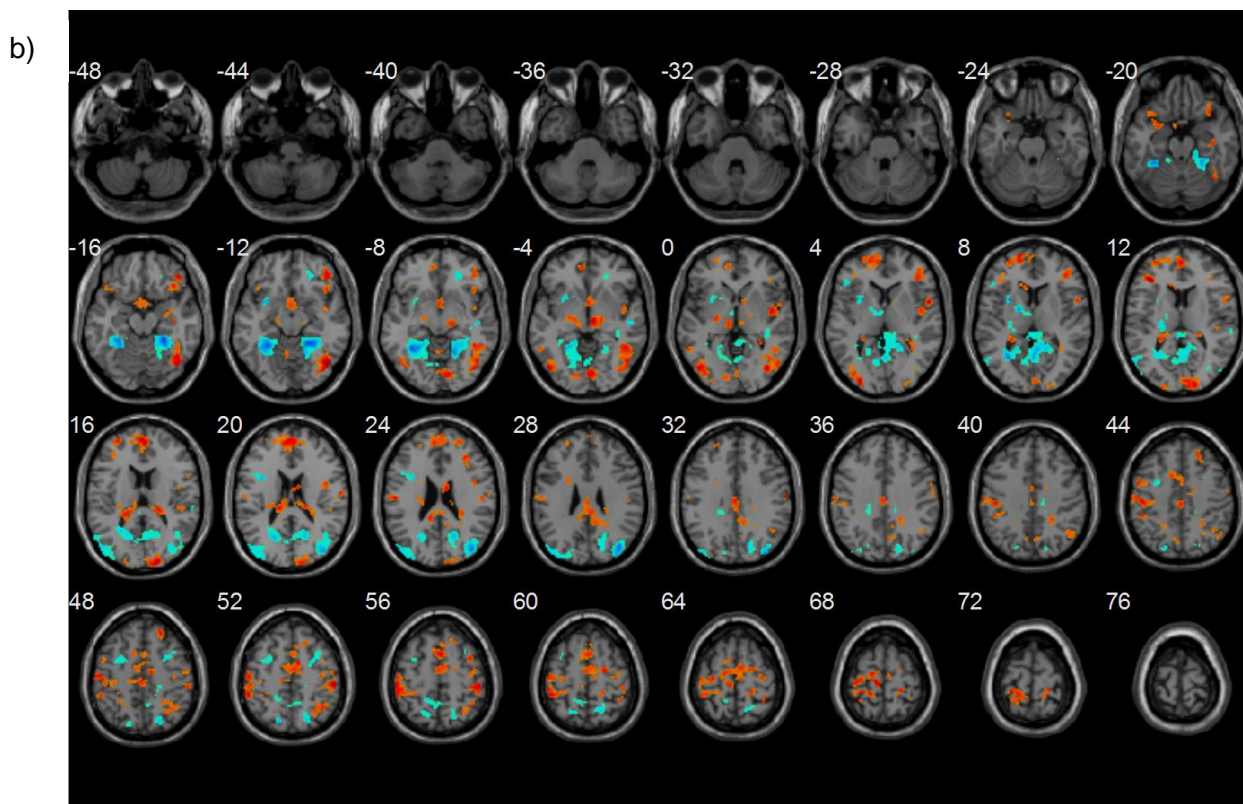
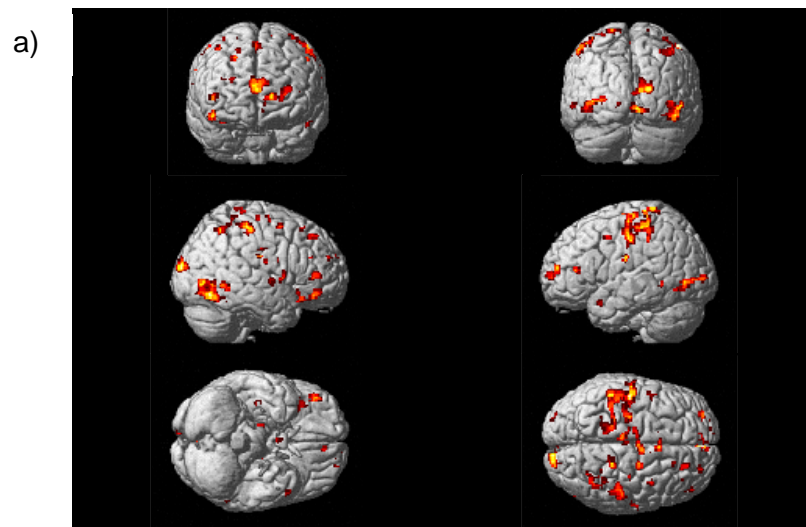


Figura 29 Matriz de diseño y activaciones en un análisis de 2° Nivel de efectos globales (n=20)

a) Render con activaciones positivas del análisis de 2° Nivel del efecto global (n=10) $p=0.02$ unc
 b) Activaciones relacionadas con estímulos visuales (Rojo) y Activaciones relacionadas con estímulos neutros (Azul). Prueba T pareada ($p=0.05$ unc. Voxel threshold: 28)

d) Análisis de los efectos de la estimulación (Prueba T pareada)

Las activaciones registradas en el análisis final de segundo nivel, donde se contrastan los grupos correspondientes a las sesiones Activa y Sham, resultan ser el más importante de todos los análisis realizados. Éste nos permite conocer el efecto real de la estimulación en los participantes a través de evidenciar las diferencias de activación entre ambos grupos cuando éstos se someten al paradigma visual y se puede inferir acerca de la población de la cual procede nuestra muestra. Este último análisis combina la totalidad de las pruebas realizadas a lo largo del experimento para poder evidenciar el efecto de la estimulación, es por eso que resulta ser la pieza clave para poder comprobar nuestra hipótesis.

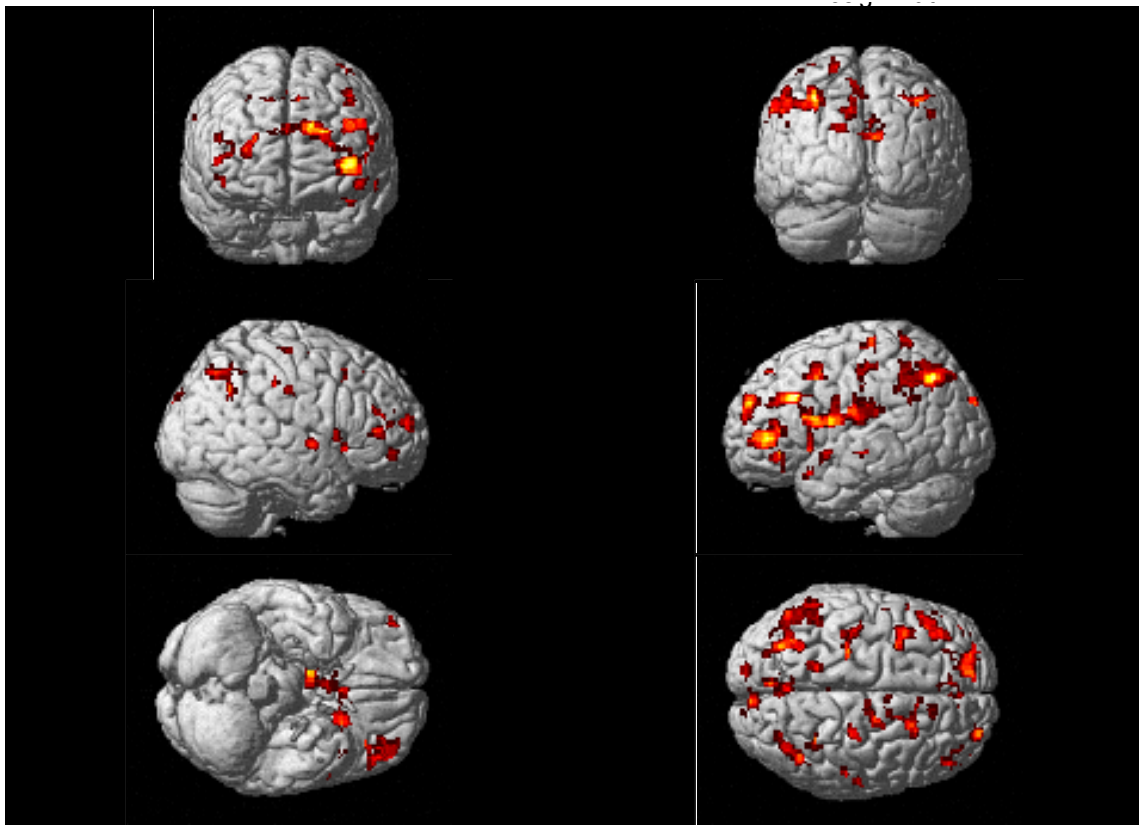


Figura 30 Render con las activaciones positivas del análisis de 2° Nivel final (n=20)

Esta imagen muestra las activaciones positivas derivadas del contraste entre los grupos de estimulación activa > estimulación sham. Estas activaciones se encuentran directamente relacionadas con la respuesta antes los estímulos visuales luego de una sesión de estimulación. ($p= 0.05$, Voxel threshold: 20).

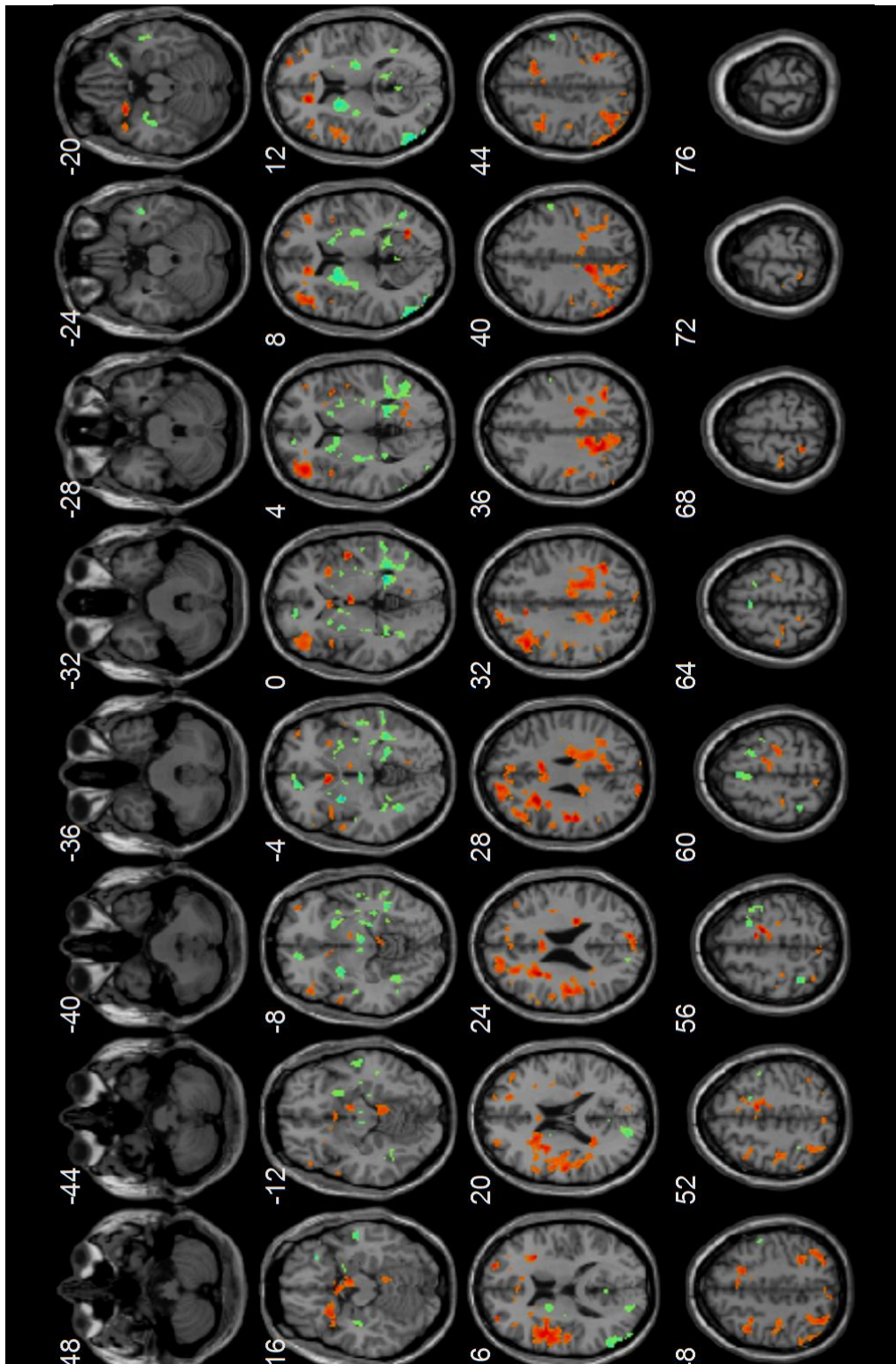


Figura 31 Matriz y activaciones en análisis de segundo nivel (n=10)

Activaciones relacionadas con la estimulación activa (Rojo) y Activaciones relacionadas con la sesión de control sham (Azul). Prueba T pareada ($p=0.05$ unc. Voxel threshold: 28)

Tabla 5 Lista de clústers de activación en el análisis ACTIVA>SHAM

Lado	Área del encéfalo	AB	Coordenadas			T
			x	y	Z	
Sesión Activa						
R	Sub-giral		20	-6	56	6.68
L	Sub-giral		-26	16	26	6.53
L	Lóbulo Parietal inferior	39	-52	-66	40	5.83
L	Lóbulo Parietal inferior		-44	-26	28	5.59
L	Giro Cingulado	31	-8	-40	40	5.41
L	Precúneo		-16	-54	36	5.33
L	Cíngulo Anterior	25	-4	18	-2	5.31
L	Insula		-40	6	16	5.19
L	Cíngulo Anterior	32	-12	40	12	4.57
Sesión Sham						
L	Putamen		-18	0	10	-7.52
R	Sub-giral		28	-44	0	-6.13
L	Nucleo Lentiforme		-24	2	-6	-5.96
L	Giro Temporal medio		-56	-64	10	-4.41

Abreviación: AB = Area de Brodmann.

Prueba T pareada ($p < 0.001$) unc. Cluster threshold of 5

En un análisis de encéfalo completo, se encontraron clústers significativos de activación (Ver Tabla 5), la mayoría de ellos se encuentra en el hemisferio izquierdo con las activaciones más significativas en las estructuras del sistema límbico, comúnmente relacionados a las funciones racionales cognitivas (Corteza Cingular Anterior), la memoria episódica y la estado de conciencia (Giro Cingular Posterior, Precúneo).

Además, se registró actividad cerebral en el Área de Brodmann 25, un área funcional que guarda una conectividad funcional intrínseca con la dIPFC, recientemente descubierta a través del uso de EMT en el tratamiento de la presión y cuyas activaciones se encuentran correlacionadas de manera negativa [48]. Otra activación importante fue registrada en la ínsula, un área ampliamente relacionada con el procesamiento emocional y el procesamiento de deseos consientes [49].

También se registraron activaciones negativas en estructuras encargadas de la regulación de dopamina (Putamen) y el reconocimiento visual de patrones o caras (Giro Temporal medio).

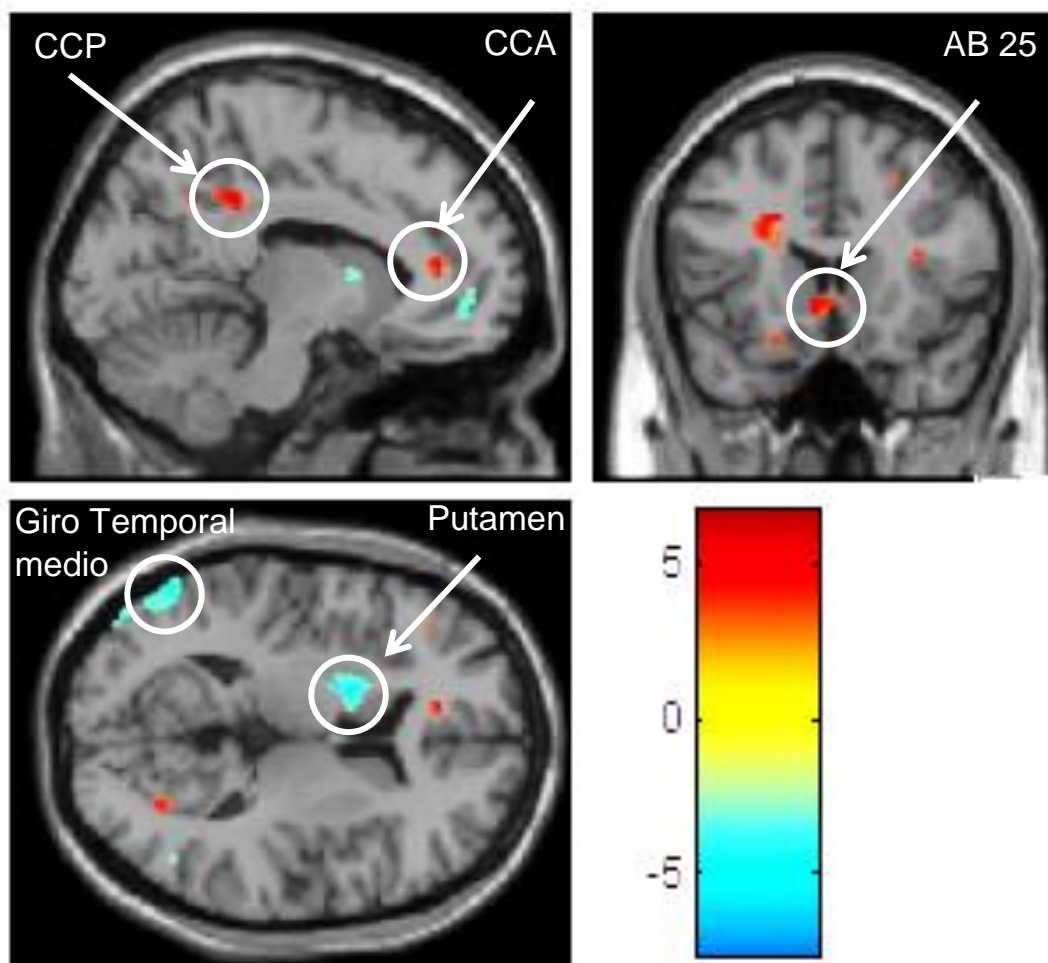


Figura 32 Vistas seccionales con las activaciones más significativas

En la imagen se muestran las principales activaciones del análisis de 2º Nivel con contraste Activa>Sham mostrando actividad relacionada con la estimulación (Rojo) y su control (Azul). CCP: Córtex del Cíngulo Posterior; CCC: Córtex del Cíngulo Anterior AB: Área de Brodmann;

5.3 Resumen de resultados y su significancia

Cada uno de los pasos que conforman el análisis de las imágenes llevado a cabo a lo largo de este trabajo y sus correspondientes resultados permiten conformar y complementar el análisis final del estudio, el cual arroja los resultados más sobresalientes. A continuación se ilustra el tipo y relevancia de cada uno de los resultados propios de cada análisis:

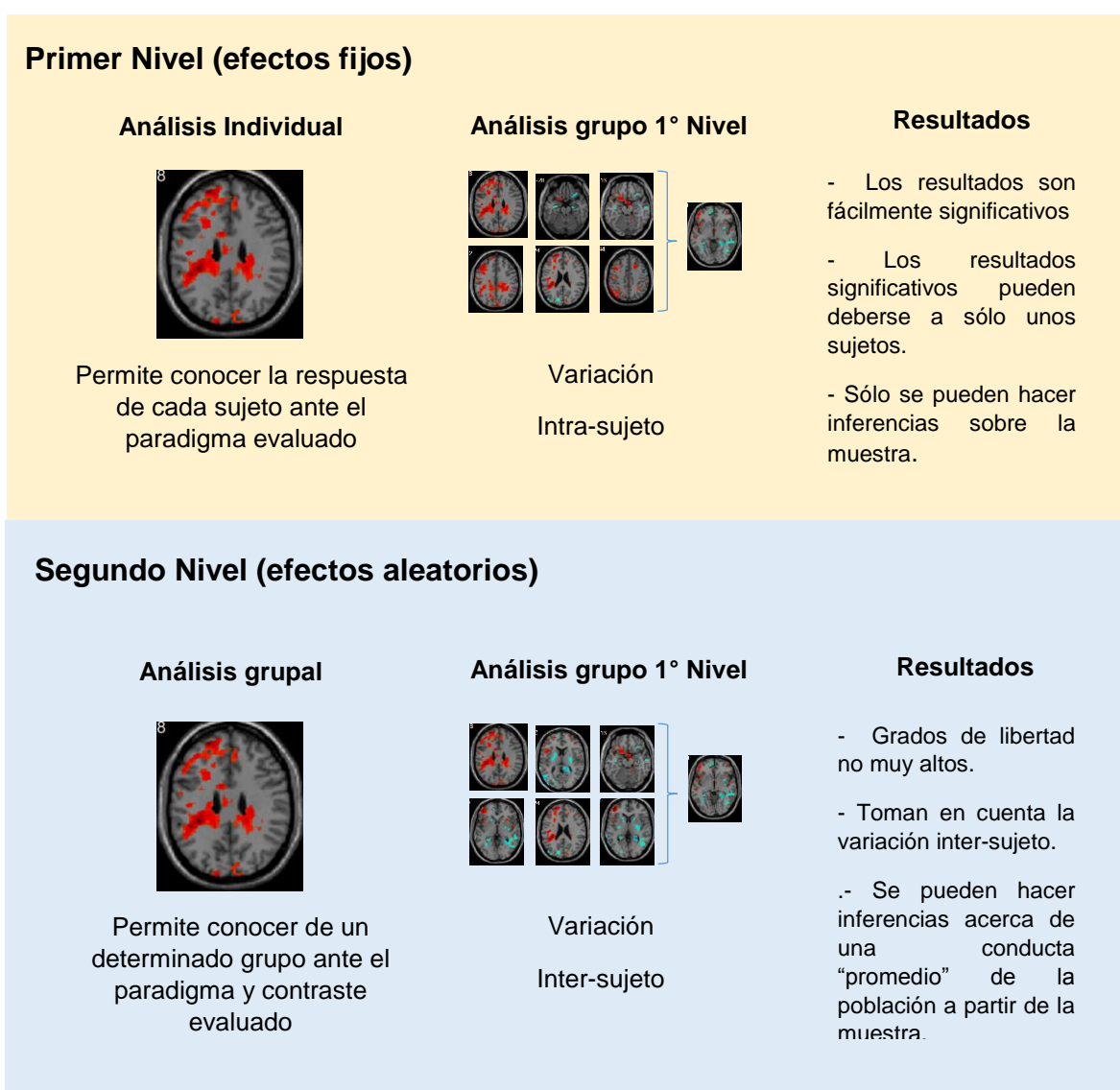


Figura 33 Interpretación de los diferentes resultados del análisis de imágenes de 1° y 2° Nivel

Aunado a esto es importante mencionar la relación que guardan los análisis de segundo nivel, pues cada uno permite conocer parte de la respuesta por cada uno de los grupos evaluados así como sus respectivas combinaciones, es decir, una prueba de efectos globales resulta ser la suma de las medias de los grupos (activa +1 y sham +1) mientras que una prueba T pareada equivale a contrastar estos dos grupos (activa +1 y sham -1) con lo cual obtenemos la diferencia entre estos dos grupos, si bien este último contraste resulta ser el de mayor relevancia el resto de las pruebas pueden arrojar resultados interesantes y complementarios dignos de ser analizados a futuro.

5.4 Evaluaciones Visuales Análogas

Los puntajes fueron obtenidos de cada test aplicado antes y después de la sesión de estimulación. Utilizando una ANOVA (2 x 2: Tiempo 1, 2; Tratamiento S, A) para conocer el efecto general de estimulación en todas las variables obtenidas. Se encontraron diferencias significativas entre grupos dada por el factor Tratamiento ($p=0.096$). Un análisis post-hoc utilizando una corrección de Tukey ($p<0.05$) encontró diferencias significativas entre los subgrupos Post-Sham y post-Activa ($p=0.047$).

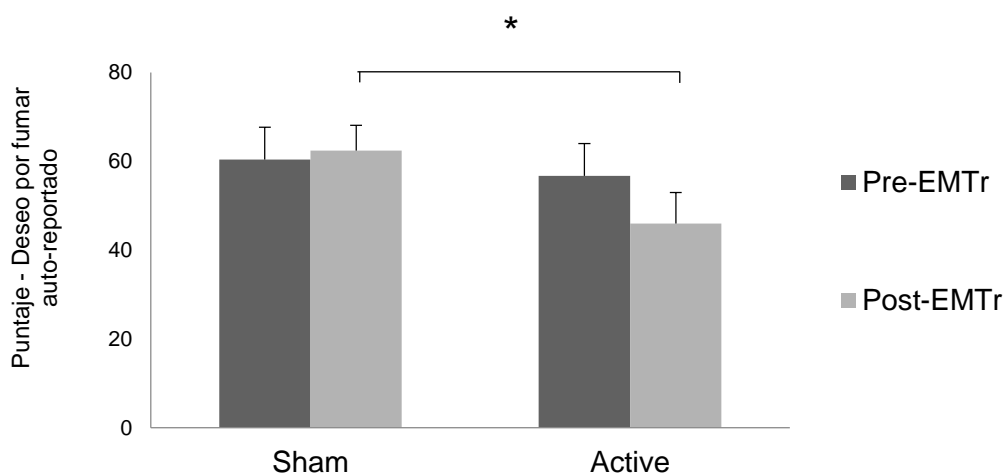


Figura 34 Puntaje de “deseo por fumar” auto-reportado a lo largo del estudio.

**Denota una Diferencia significativa entre grupos (post-sham vs post-activa)*

Se evaluaron también el resto de los puntajes que evaluaban el efecto en el estado de ánimo causado por la sesión de estimulación sin que se encontraran diferencias significativas entre grupos y subgrupos:

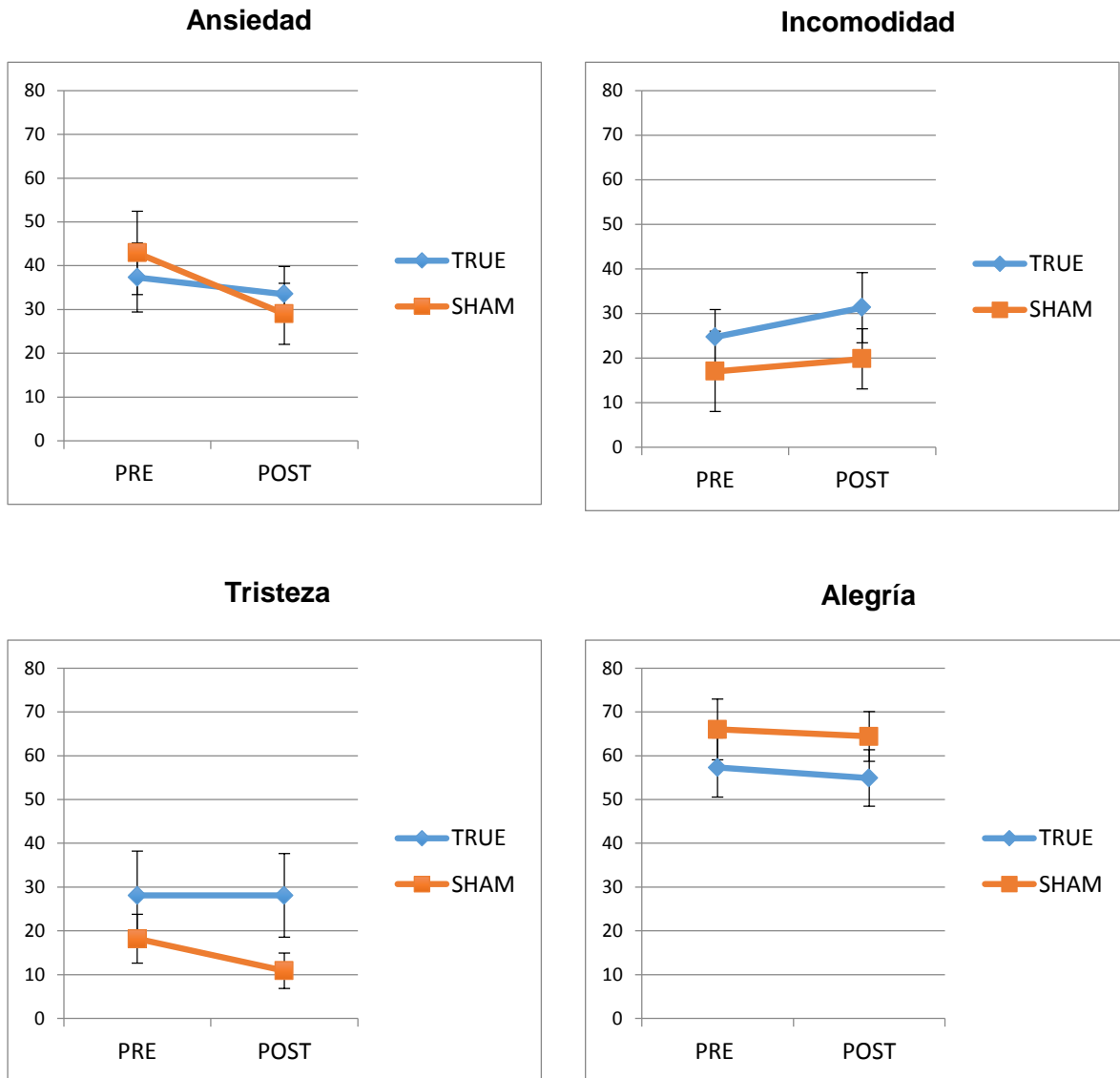


Figura 35 Variación de los puntajes de estado de ánimo auto-reportados

*Puntaje (0-100) evaluado previo a la estimulación (PRE) y posterior a ésta (POST) en las dos sesiones con estimulación Activa (TRUE) y simulada (SHAM). (Media ±SEM) * Denota diferencias significativas entre grupos.*

5.5 Consumo de cigarrillos

Una vez obtenidos los registros, se procedió a realizar una ANOVA de medidas repetidas para evaluar el efecto de la estimulación. No se encontraron diferencias significativas en el consumo de cigarrillos en ninguno de los dos grupos (ver figura 33).

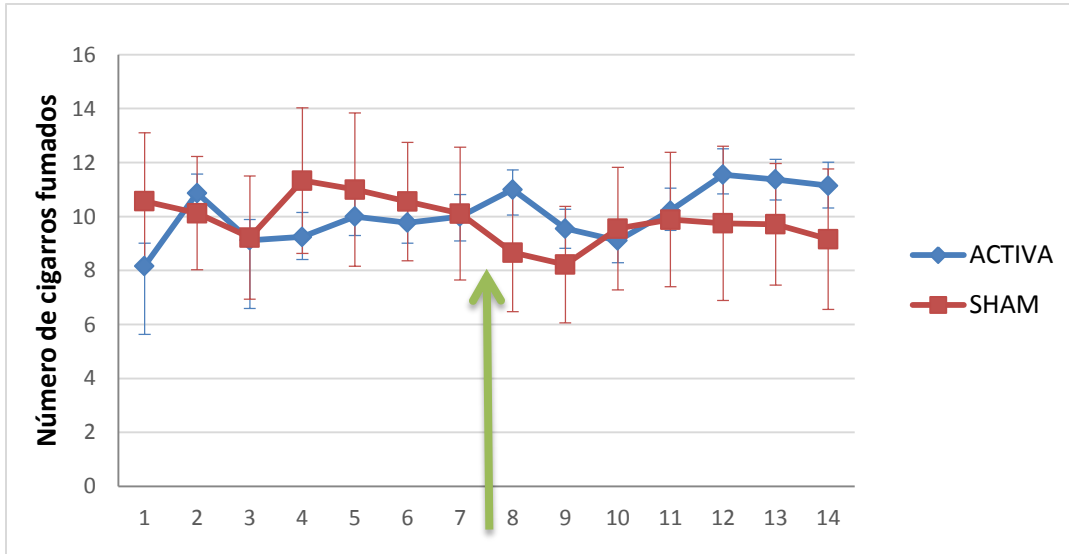


Figura 36 Hábitos de consumo de los fumadores a lo largo del experimento

Media de cigarrillos consumidos a lo largo de los 7 días antes y después de la estimulación. La flecha verde indica el día de la sesión de EMTr. Los sujetos (n=9) llevaron el registro de sus cigarrillos fumados incluso una semana antes de la primera estimulación.

La cantidad de cigarrillos promedio consumidos por los participantes a lo largo de todo el experimento fue de 9.98 por día. En los datos analizados no se tomó en cuenta el registro de cigarrillos fumados el día de cada sesión de estimulación.

6 DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran que una sola sesión de EMTr de baja frecuencia con un pre-tratamiento de priming aplicada sobre la DLPFC izquierda reduce sensiblemente el deseo o ganas de fumar en adultos con una dependencia moderada a la nicotina cuando son expuestos a estímulos relacionados con su adicción.

Aunado a estos resultados, el análisis realizado a través de las imágenes de fMRI proporciona pistas acerca del mecanismo neural responsable de este cambio en la respuesta evaluada después del tratamiento de estimulación que involucra una alteración funcional momentánea de las regiones cortico-límbicas del cerebro implicadas en el proceso de adicción a la droga y particularmente al deseo por fumar [24].

Para nuestra sorpresa, la mayoría de las áreas de activación que resultan estar asociadas con el efecto de estimulación se encuentran registradas en estructuras profundas del cerebro, las cuales se encuentran funcional y anatómicamente conectadas con la corteza DLPFC pero fuera del alcance de efecto de los campos magnéticos transitorios. Esto sugiere que el efecto neuromodulador podría ser causado no solo por la inhibición temporal del mecanismo cognitivo propio de la DLPFC sino que se debe en mayor parte a un efecto de regulación de emocional propio de las proyecciones que estas zonas profundas del cerebro tienen sobre el procesamiento y ejecución de las tareas cognitivas en la corteza prefrontal [50].

Entre las principales regiones funcionales que registraron actividad frente a la exposición de estímulos visuales luego de una sesión de estimulación activa se encuentra la Corteza ventromedial prefrontal (vmPFC, por sus siglas en inglés) correspondiente a las áreas de Brodmann 32 y 25. Estas estructuras del sistema prelímbico están relacionadas con funciones como la toma de decisiones y la regulación emocional entre otros.

El AB 32, correspondiente a la región dorsal del cíngulo anterior, es una región normalmente vinculada a la toma de decisiones basadas en base a recompensas[51] y la integración de experiencia previa para guiar la conducta voluntaria[52]. En el caso del AB 25, correspondiente al giro cingulado subcalloso, corresponde a una región clave en la

conducción del tráfico neural entre el pensamiento cognitivo de la corteza frontal y la región central límbica filogenéticamente más antigua que provoca el aumento de las emociones. Recientemente se ha encontrado que el AB 25 presenta una sobre-activación en personas con depresión [53]. El uso de la EMT para el tratamiento de la depresión ha demostrado una mejora en los resultados clínicos cuando la estimulación es dirigida específicamente al AB 46, esto debido a que el AB 46 tiene una conectividad funcional intrínseca (correlación negativa) con el AB 25 [48].

Se registraron también activaciones en el AB 31, correspondiente al giro cingular posterior en su región dorsal, estas regiones han sido vinculadas con la regulación de la atención y la memoria autobiográfica además de ser clave en el proceso en el estado de conciencia[54]. Junto con el Precúneo, estas áreas resultan estar vinculadas en el proceso del control de la conducta no basada en metas conocida como “default mode”[55].

Otras activaciones fueron registradas el AB 39, localizada en el giro supramarginal y angular, relacionada normalmente a lenguaje y el procesamiento de una secuencia de acciones vinculadas a la corteza prefrontal[56]. Por último se encontraron también activaciones en la ínsula, un área ampliamente relacionada con la adicción y la respuesta consciente a los estímulos relacionados con una droga [57] y que junto con la corteza del cíngulo anterior, AB39 y otras estructuras, generan un sistema de integración neurovisceral para la regulación de la emoción[58].

Resulta igual de interesante conocer y evaluar las activaciones negativas obtenidas en los diferentes contrastes, si bien tienen un carácter negativo en el análisis éstas no pueden interpretarse como una hipoactivación en las estructuras en las que aparecen sino más bien representan la actividad funcional propiamente relacionada al estímulo o sesión de control, estadísticamente representa la diferencias encontradas respecto a la media de las dos pruebas o estados comparados.

Por lo anterior, activaciones negativas en el análisis de 2° nivel (véase fig. 18, 19) representarían en parte la respuesta normal a los estímulos visuales, la más significativa de estas se encuentra en el Putamen, una estructura regularmente implicada en hábitos de aprendizaje y que ha evidenciado ser parte fundamental en la regulación de neurotransmisores como la dopamina cuando las personas con adicción a la cocaína son expuestas a estímulos relacionados con una droga [59].

Integrando todos estas áreas de activación y funciones cognitivas podemos proponer que el efecto propio de la EMTr de baja frecuencia sobre la corteza dlPFC no sólo genera una inhibición del área estimulada, sino también activa el mecanismo neural del control de emoción del momento en que el sujeto es expuesto a los estímulos visuales y que aunado a una compensación a través de neurotransmisores genera una respuesta más ligera que la respuesta normal, evidenciada por los niveles subjetivos de antojo o deseo por fumar y estado de ánimo auto-reportados luego de la estimulación.

Aunque se utilizaron pruebas estadísticas con valores $p=0.001$ para la determinación de las activaciones, éstas no sobreviven al aplicar correcciones o pruebas estrictas como FWE o FDR. Estudios previos en donde se utilizó el mismo paradigma visual reportan esta constante [60] que podría ser explicada por diversos factores.

En primera, se encontró que para algunos sujetos había poca diferencias en señal BOLD al contrastar los estímulos fumadores y neutrales. Aunque los estímulos visuales pueden desencadenar el mecanismo de búsqueda por la droga, para algunos participantes resulta necesario más que una imagen para provocar un deseo fuerte por fumar. En esta línea, diversos estudios han incluido estímulos táctiles como el sostener un cigarro mientras se observan imágenes relacionadas con fumar[61] o incluso el uso de olores relacionados con el tabaco[62].

Otro factor clave para obtener activaciones significativas resulta ser el nivel de dependencia a la nicotina de cada paciente, estudios recientes han encontrado correlación entre el puntaje FTND y una mayor activación de las áreas involucradas en el antojo por fumar [63]. En este estudio se seleccionaron únicamente sujetos con una dependencia moderada a la nicotina, esto aunado a los factores anteriormente mencionados podrían ser la causa de la baja actividad funcional registrada por lo que trabajo a futuro deberá tomar en cuenta la optimización de estos aspectos metodológicos.

En cuanto a la evaluación de los niveles de antojo o deseo por fumar mediante la EVA, las diferencias encontradas indican que estos niveles pueden ser disminuidos por la EMTr activa como se ha reportado en estudios previos [33], si bien las diferencias entre el pre y post de la sesión de estimulación encontradas no son significativas los datos muestran una tendencia clara que podría adquirir significancia con un número mayor de pruebas, aunado al hecho que la medición fue realizada inmediatamente después de terminada la estimulación lo que pudo ser una ventana de tiempo muy corta.

Uno de los resultados más interesantes hallados en el experimento fue la sensible variación de los diferentes estados de ánimo auto-reportados después de la estimulación magnética. Dado que la dIPFC es una región que se encuentra conectada con las diversas áreas del sistema límbico, es factible pensar en una alteración temporal de las emociones causada por la estimulación y que bien podría ser la base del efecto inmediato de disminución de los niveles de antojo y el cambio en los estados de ánimo en general.

Existe evidencia que una sola sesión de EMTr de alta frecuencia puede tener efecto positivo en la disminución del consumo de cigarrillos, sin embargo no se encontró evidencia acerca de un efecto significativo en el consumo que una sola sesión de EMTr de baja frecuencia pueda tener [29]. Si bien una disminución temporal en los niveles de deseo por fumar podría ser útil para el control de una adicción, pensamos que sería necesario más de una sesión de estimulación para poder modificar el consumo de cigarrillos como se ha evidenciado en estudios similares [33] en los que 5 o más sesiones son utilizadas para modificar los hábitos fumadores de los participantes.

Existen algunas limitaciones potenciales en esta parte del estudio. No se llevaron a cabo evaluaciones del nivel de deseo por fumar en las horas siguientes después de la estimulación que podrían ser necesarias para poder evaluar el efecto de fijado y potencialización del efecto inhibitor causado por el priming. En lugar de esto, se decidió enfocarse en crear una sensación de deseo por fumar mucho más fuerte usando una expectativa inmediata a fumar justo después de finalizar el estudio, pues es justo este tipo de escenario en el que el papel de la corteza dIPFC se ve altamente incrementado [28].

Adicionalmente, el consumo de cigarrillos no fue registrado por los participantes en los días en que se llevó a cabo la sesión de estimulación aunado al hecho de que en algunos sujetos el registro de los días posteriores a la primera estimulación y previos a la segunda sesión son coincidentes debido al tiempo transcurrido entre una sesión y otra lo que podría generar un error de acarreo.

7 CONCLUSIÓN

Los resultados de este estudio permiten observar de forma objetiva el efecto de la EMTr sobre el circuito neurológico responsable en parte de generar el deseo por fumar luego de la exposición a estímulos visuales, proporcionando una mirada al vínculo existente entre la estimulación de la corteza dlPFC y la actividad funcional en áreas distantes relacionadas.

Es importante destacar que uno de los hallazgos más interesantes del estudio sugiere que el efecto de la estimulación parece ir más allá de la inhibición temporal de las zonas funcionales de la corteza prefrontal involucradas y la propia dlPFC, responsable de la evaluación del contexto y disponibilidad de la droga. Se puede entonces plantear que el efecto de la EMTr va más allá de interferir con el proceso de integración de los diversos procesos cognitivos en las áreas prefrontales relacionadas con la adicción, alterando así la respuesta característica a los estímulos visuales del cigarro.

Los resultados sugieren que el efecto principal se encuentra en la activación de los mecanismos neurales del control de la emoción frente a los estímulos relacionados con la adicción, traduciéndose en una disminución subjetiva del deseo por fumar y una diferencia marcada entre los grupos estimulado y aquellos que recibieron un placebo.

Si bien este estudio demuestra que la estimulación de baja frecuencia pre-tratada con priming puede reducir el deseo por fumar, una investigación enfocada a evaluar los efectos a largo plazo de la EMTr es necesaria para poder desarrollar un tratamiento efectivo para cesar de fumar.

Resulta importante resaltar el efecto que la estimulación tiene sobre el estado de ánimo de los participantes debido a que la zona estimulada ha sido el centro de los tratamientos para el control de la depresión utilizando EMT. Si bien estas alteraciones del humor registradas pueden ser causadas por la alteración del sistema límbico, podrían favorecer el reforzamiento de la técnica en una aplicación clínica.

8 PERSPECTIVAS

Parte del trabajo a futuro incluye el análisis post-hoc de las activaciones utilizando métodos de regresión múltiple y la generación de contrastes de estimación de parámetros que involucran características como el género, nivel de dependencia y hábitos de consumo, que podrían evidenciar algunas diferencias en reactividad y efectos de la EMTr propias de cada grupo, tomando como base el análisis de efectos globales generado en este trabajo.

Aunado a estas pruebas, se encuentra la posibilidad de implementar un análisis de las imágenes de resonancia funcional utilizando factores psico-sociales, estos pueden ser incluidos en el análisis mediante una matriz de covariables correspondientes a los datos adquiridos en la tarea de atención del paradigma evaluado y que permitirían establecer una correlación entre los sentimientos (positivos y negativos) evaluados durante la tarea y las activaciones registradas, además de mejorar el modelo de la respuesta a estímulos relacionado con la adicción a la nicotina.

Cabe destacar que parte de la relevancia de este proyecto de investigación recae en el conocimiento, desarrollo y aplicación de los protocolos de estimulación magnética transcraneal aplicado a personas y el estudio de sus efectos mediante el uso de resonancia magnética funcional, estableciendo así el primer proyecto de su tipo en realizarse en el CI³M, sentando las bases para el desarrollo e implementación de la técnica al catálogo de servicios ofrecidos por la institución.

9 ABREVIATURAS

AB.- Área de Brodmann.

ACC.- Anterior Cingulate Cortex (Corteza del Cíngulo Anterior).

AMG.- Amígdala.

APB.- Abductor Pollicis Brevis.

BNST.- Bed nucleus of the Stria Terminalis (Estría terminal).

BOLD.- Blood Oxygen Level-Dependent (Nivel de Oxigenación Sanguínea).

CBF.- Flujo Cerebral Local.

con*img.- Imagen de contraste.

DLPFC .- Dorsolateral Prefrontal Cortex (Corteza Dorsolateral Prefrontal).

DS.- Dorsal Striatum (Estríado Dorsal).

EMT.- Estimulación Magnética Transcraneal.

EMTr.- Estimulación Magnética Transcraneal repetitiva.

EPI.- Echo Planar Imaging (Imagen eco-planar).

EVA.- Escalas Visuales Análogas.

fMRI.- Functional Magnetic Resonance Imaging (Resonancia magnética funcional).

FTND.- Fagerström Test for Nicotine Dependence (Test de Fagerström de dependencia a la nicotina).

HRF.- Hemodynamic Response Function (Función de Respuesta Hemodinámica).

MT.- Motor Threshold (Umbral motor).

NMR.- Nuclear Magnetic Resonance (Resonancia Magnética Nuclear).

OFC.- Orbito Frontal Cortex (Corteza Órbita-Frontal).

OM.- Observable Movement (Movimiento Observable).

oxiHb.- Oxihemoglobina.

PET.- Positron emission tomography (Tomografía por emisión de Protones)

unc.- Uncorrected (Sin corrección).

vmPFC .- Ventromedial Prefrontal Cortex (Corteza Ventromedial Prefrontal).

VS.- Ventral Striatum (Estríado Ventral).

10 GLOSARIO

Abductor Pollicis Brevis.- Es el músculo abductor corto del pulgar, un músculo plano y delgado localizado justo por debajo de la piel de la palma de la mano.

Área subgenual.- Correspondiente al área de Brodmann 25, ubicada en la corteza media prefrontal.

Baseline.- Es la primera medición de todos los indicadores contemplados en el diseño de un proyecto.

Constante giromagnética.- Cociente entre el momento magnético de un átomo (o de un núcleo o electrón) y el momento cinético del mismo.

Neuromodulación.- Es el proceso en el que varias clases de neurotransmisores en el sistema nervioso regulan las diferentes poblaciones de neuronas

Precesión.- Es el movimiento asociado con el cambio de dirección en el espacio, que experimenta el eje instantáneo de rotación de un cuerpo.

Priming.- Es un protocolo de estimulación previa diseñado para aumentar la susceptibilidad de los circuitos corticales a la depresión sináptica causado por la estimulación repetitiva de baja frecuencia.

Sham.- Estimulación simulada, placebo.

Vía mesolímbica.- Es una de las vías dopaminérgicas en el cerebro, asociada con la modulación de las respuestas de la conducta frente a estímulos de gratificación emocional y motivación.

Voxel.- Es la unidad cúbica que compone un objeto tridimensional. Constituye la unidad mínima procesable de una matriz tridimensional y es, por tanto, el equivalente del píxel en un objeto 3D.

11 BIBLIOGRAFÍA

- [1] C. Secretaría de Salud, Conadic, Oficina nacional para el control del tabaco, "Encuesta Global de Tabaquismo en Adultos (GATS)," 2009.
- [2] P. Eichhammer, M. Johann, A. Kharraz, H. Binder, D. Pittrow, N. Wodarz, and G. Hajak, "High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation decreases cigarette smoking.," *J. Clin. Psychiatry*, vol. 64, no. 8, pp. 951–3, Aug. 2003.
- [3] R. Uher, D. Yoganathan, A. Mogg, S. V Eranti, J. Treasure, I. C. Campbell, D. M. McLoughlin, and U. Schmidt, "Effect of left prefrontal repetitive transcranial magnetic stimulation on food craving.," *Biol. Psychiatry*, vol. 58, no. 10, pp. 840–2, Nov. 2005.
- [4] M. García-anaya, J. González-olvera, J. Ricardo-garcell, G. Armas, E. Miranda, E. Reyes, and G. A. Otero, "Clinical and electrophysiological effect of right and left repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with major depressive disorder," vol. 34, no. 4, pp. 291–299, 2011.
- [5] and S. B. Christian C. Ruff, Jon Driver, "Combining TMS and fMRI : From virtual lesions to functional-network accounts of cognition," *Cortex*, vol. 45, no. 9, pp. 1043–1049, 2009.
- [6] E. M. Wassermann, "Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, June 5-7, 1996.," *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 108, no. 1, pp. 1–16, Jan. 1998.
- [7] M. S. George and G. Aston-Jones, "Noninvasive techniques for probing neurocircuitry and treating illness: vagus nerve stimulation (VNS), transcranial magnetic stimulation (TMS) and transcranial direct current stimulation (tDCS).," *Neuropsychopharmacology*, vol. 35, no. 1, pp. 301–16, Jan. 2010.
- [8] M. C. Ridding and J. C. Rothwell, "Is there a future for therapeutic use of transcranial magnetic stimulation?," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 8, pp. 559–567, 2007.
- [9] R. Jalinous, "Technical and practical aspects of magnetic nerve stimulation.," *J. Clin. Neurophysiol.*, vol. 8, pp. 10–25, 1991.
- [10] J. M. T.-M. A. Pacual-Leone, "Estimulación magnética transcraneal : fundamentos y potencial de la modulación de redes neurales específicas," vol. 46, no. Supl 1, pp. 3–10, 2008.
- [11] R. E. Hoffman, I. Cavus, and D. Ph, "Slow Transcranial Magnetic Stimulation , Long-Term," pp. 1093–1102.

-
- [12] P. J. L. Rees, D. Unit, C. Human, G. Unit, R. Infirmiry, and L. Place, "Transcranial magnetic stimulation and auditory hallucinations in schizophrenia," vol. 355, pp. 1073–1075, 2000.
- [13] N. Tarhan, F. G. H. Sayar, O. Tan, and G. Kagan, "Efficacy of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation in treatment-resistant depression.," *Clin. EEG Neurosci.*, vol. 43, no. 4, pp. 279–84, Oct. 2012.
- [14] D. A. Double-blind, P. Study, H. Cohen, D. Ph, Z. Kaplan, M. Kotler, I. Kouperman, R. Moisa, and N. Grisaru, "Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation of the Right Dorsolateral Prefrontal Cortex in Posttraumatic Stress," pp. 515–524.
- [15] S. Rossi, M. Hallett, P. M. Rossini, and A. Pascual-Leone, "Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research.," in *Clinical neurophysiology: official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 2009, vol. 120, pp. 2008–2039.
- [16] B. Calvo-merino and P. Haggard, "Estimulación magnética transcraneal. Aplicaciones en neurociencia cognitiva" vol. 38, no. 4, pp. 374–380, 2004.
- [17] A. B. Conforto, W. J. Z'Graggen, A. S. Kohl, K. M. Rösler, and A. Kaelin-Lang, "Impact of coil position and electrophysiological monitoring on determination of motor thresholds to transcranial magnetic stimulation.," *Clin. Neurophysiol.*, vol. 115, no. 4, pp. 812–9, Apr. 2004.
- [18] G. M. Pridmore S, Fernandes Filho JA, Nahas Z, Liberatos C, "Motor threshold in transcranial magnetic stimulation: a comparison of a neurophysiological method and a visualization of movement method." . *J ECT*, vol. 14, no. 1, pp. 25–27, 1998.
- [19] A. Varnava, M. G. Stokes, and C. D. Chambers, "Reliability of the 'observation of movement' method for determining motor threshold using transcranial magnetic stimulation.," *J. Neurosci. Methods*, vol. 201, no. 2, pp. 327–32, Oct. 2011.
- [20] X. Li, Z. Nahas, F. A. Kozel, B. Anderson, D. E. Bohning, and M. S. George, "Acute left prefrontal transcranial magnetic stimulation in depressed patients is associated with immediately increased activity in prefrontal cortical as well as subcortical regions.," *Biol. Psychiatry*, vol. 55, no. 9, pp. 882–90, May 2004.
- [21] S. Bestmann, "The physiological basis of transcranial magnetic stimulation.," *Trends Cogn. Sci.*, vol. 12, no. 3, pp. 81–3, Mar. 2008.
- [22] M. B. Iyer, N. Schleper, and E. M. Wassermann, "Priming stimulation enhances the depressant effect of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation.," *J. Neurosci.*, vol. 23, no. 34, pp. 10867–72, Nov. 2003.
- [23] J. Agora, "Neurochemistry of Addiction," *Agora Reneneration Clin. Ltd.*, pp. 5–7, 2006.
-

-
- [24] R. Z. Goldstein, D. Ph, and N. D. Volkow, "Reviews and Overviews Drug Addiction and Its Underlying Neurobiological Basis: Neuroimaging Evidence for the Involvement of the Frontal Cortex," no. October, pp. 1642–1652, 2002.
- [25] M. Kabar, "Neuromodulación y la estimulación magnética transcraneal: un nuevo paradigma en el tratamiento de los trastornos psiquiátricos .," vol. 73, no. 1, pp. 26–34.
- [26] G. F. Koob and N. D. Volkow, "Neurocircuitry of addiction.," *Neuropsychopharmacology*, vol. 35, no. 1, pp. 217–38, Jan. 2010.
- [27] O. George and G. F. Koob, "Craving, context and the cortex.," *Nat. Neurosci.*, vol. 14, no. 4, pp. 409–10, Apr. 2011.
- [28] D. McBride, S. P. Barrett, J. T. Kelly, A. Aw, and A. Dagher, "Effects of expectancy and abstinence on the neural response to smoking cues in cigarette smokers: an fMRI study.," *Neuropsychopharmacology*, vol. 31, no. 12, pp. 2728–38, Dec. 2006.
- [29] J. Feil and A. Zangen, "Brain stimulation in the study and treatment of addiction.," *Neurosci. Biobehav. Rev.*, vol. 34, no. 4, pp. 559–74, Mar. 2010.
- [30] M. S. Barr, P. B. Fitzgerald, F. Farzan, T. P. George, and Z. J. Daskalakis, "Transcranial magnetic stimulation to understand the pathophysiology and treatment of substance use disorders.," *Curr. Drug Abuse Rev.*, vol. 1, no. 3, pp. 328–39, Nov. 2008.
- [31] J. A. Camprodón, J. Martínez-Raga, M. Alonso-Alonso, M.-C. Shih, and A. Pascual-Leone, "One session of high frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) to the right prefrontal cortex transiently reduces cocaine craving.," *Drug Alcohol Depend.*, vol. 86, no. 1, pp. 91–4, Jan. 2007.
- [32] B. R. Mishra, S. H. Nizamie, B. Das, and S. K. Praharaj, "Efficacy of repetitive transcranial magnetic stimulation in alcohol dependence: a sham-controlled study.," *Addiction*, vol. 105, no. 1, pp. 49–55, Jan. 2010.
- [33] R. Amiaz, D. Levy, D. Vainiger, L. Grunhaus, and A. Zangen, "Repeated high-frequency transcranial magnetic stimulation over the dorsolateral prefrontal cortex reduces cigarette craving and consumption.," *Addiction*, vol. 104, no. 4, pp. 653–60, Apr. 2009.
- [34] D. M. Paret, A. Pérez, and F. Bloch, "Resonancia magnética," *Experimentos avanzados de Física*, La Habana, pp. 1–11, 2004.
- [35] P. D. Joseph P. Hornak, "Basics of NMR," 2011. [Online]. Available: <http://www.cis.rit.edu/htbooks/nmr/>.
- [36] C. de E. y C. del G. del P. de A. P. de Asturias, "Espectroscopía de moléculas por resonancia magnética nuclear (RMN) según el modelo de desplazamiento químico," *Educastur*, 2008. [Online]. Available:
-

http://nea.educastur.princast.es/repositorio/PRESENTACIONES/1_nea_colab09_PDF_espectroscopia.pdf.

- [37] Dra Sue Francis (Universidad de Nottingham), "Apuntes de la asignatura: Nuclear Magnetic Resonance (F33SQ6)," 2006.
- [38] S. Ogawa, "Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: Functional brain mapping with magnetic resonance imaging.," *Neurobiology*, vol. 89, no. Proc. Natl. Acad. Sci. Usa, pp. 5951–5955, 1992.
- [39] W. R. Nitz, "Fast and ultrafast non-echo-planar MR imaging techniques.," *Eur. Radiol.*, vol. 12, no. 12, pp. 2866–82, Dec. 2002.
- [40] T. Q. Li, T. N. Haefelin, B. Chan, a Kastrup, T. Jonsson, G. H. Glover, and M. E. Moseley, "Assessment of hemodynamic response during focal neural activity in human using bolus tracking, arterial spin labeling and BOLD techniques.," *Neuroimage*, vol. 12, no. 4, pp. 442–51, Oct. 2000.
- [41] O. J. Arthurs and S. Boniface, "How well do we understand the neural origins of the fMRI BOLD signal?," *Trends Neurosci.*, vol. 25, no. 1, pp. 27–31, Jan. 2002.
- [42] E. Amaro and G. J. Barker, "Study design in fMRI: basic principles.," *Brain Cogn.*, vol. 60, no. 3, pp. 220–32, Apr. 2006.
- [43] J. L. Armony, D. Trejo-martínez, and D. Hernández, "Resonancia Magnética Funcional (RMf): Principios y aplicaciones en Neuropsicología y Neurociencias Cognitivas" vol. 4, no. 2, pp. 36–50, 2012.
- [44] M. S. George, Z. Nahas, F. A. Kozel, X. Li, S. Denslow, K. Yamanaka, A. Mishory, M. J. Foust, and D. E. Bohning, "Mechanisms and state of the art of transcranial magnetic stimulation.," *J. ECT*, vol. 18, no. 4, pp. 170–81, Dec. 2002.
- [45] M. D. William Beam, B.S., Jeffrey J. Borckardt, Ph.D. Scott T. Reeves, M.D., and Mark S. George, "An efficient and accurate new method for locating the F3 position for prefrontal TMS applications," *Brain stimul*, vol. 2, no. 1, pp. 50–54, 2009.
- [46] S. H. Lisanby, D. Gutman, B. Luber, C. Schroeder, and H. a Sackeim, "Sham TMS: intracerebral measurement of the induced electrical field and the induction of motor-evoked potentials.," *Biol. Psychiatry*, vol. 49, no. 5, pp. 460–3, Mar. 2001.
- [47] A. Bond and M. Lader, "The use of analogue scales in rating subjective feelings," *Br J Med Physiol.*, vol. 47, pp. 211–8, 1974.
- [48] M. D. Fox, R. L. Buckner, M. P. White, M. D. Greicius, and A. Pascual-Leone, "Efficacy of transcranial magnetic stimulation targets for depression is related to intrinsic functional connectivity with the subgenual cingulate.," *Biol. Psychiatry*, vol. 72, no. 7, pp. 595–603, Oct. 2012.

-
- [49] N. H. Naqvi and A. Bechara, "The insula and drug addiction: an interoceptive view of pleasure, urges, and decision-making," *Brain Structure and Function*, pp. 1–16, 2010.
- [50] R. J. Maddock, A. S. Garrett, and M. H. Buonocore, "Posterior cingulate cortex activation by emotional words: fMRI evidence from a valence decision task.," *Hum. Brain Mapp.*, vol. 18, no. 1, pp. 30–41, Jan. 2003.
- [51] G. Bush, B. A. Vogt, J. Holmes, A. M. Dale, D. Greve, M. A. Jenike, and B. R. Rosen, "Dorsal anterior cingulate cortex: a role in reward-based decision making.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 99, pp. 523–528, 2002.
- [52] C. B. Holroyd and M. G. H. Coles, "Dorsal anterior cingulate cortex integrates reinforcement history to guide voluntary behavior," *Cortex*, vol. 44, pp. 548–559, 2008.
- [53] H. S. Mayberg, A. M. Lozano, V. Voon, H. E. McNeely, D. Seminowicz, C. Hamani, J. M. Schwalb, and S. H. Kennedy, "Deep brain stimulation for treatment-resistant depression.," *Neuron*, vol. 45, no. 5, pp. 651–60, Mar. 2005.
- [54] R. Leech and D. J. Sharp, "The role of the posterior cingulate cortex in cognition and disease.," *Brain*, vol. 137, no. Pt 1, pp. 12–32, Jan. 2014.
- [55] P. Fransson and G. Marrelec, "The precuneus/posterior cingulate cortex plays a pivotal role in the default mode network: Evidence from a partial correlation network analysis," *Neuroimage*, vol. 42, pp. 1178–1184, 2008.
- [56] S. Crozier, A. Sirigu, S. Lehmann, P. F. Van De Moortele, B. Pillon, J. Grafman, Y. Agid, B. Dubois, and D. LeBihan, "Distinct prefrontal activations in processing sequence at the sentence and script level: An fMRI study," *Neuropsychologia*, vol. 37, pp. 1469–1476, 1999.
- [57] N. H. Naqvi, D. Rudrauf, H. Damasio, and A. Bechara, "Damage to the insula disrupts addiction to cigarette smoking.," *Science*, vol. 315, pp. 531–534, 2007.
- [58] J. F. Thayer and R. D. Lane, "A model of neurovisceral integration in emotion regulation and dysregulation," *J. Affect. Disord.*, vol. 61, pp. 201–216, 2000.
- [59] N. D. Volkow, G.-J. Wang, F. Telang, J. S. Fowler, J. Logan, A.-R. Childress, M. Jayne, Y. Ma, and C. Wong, "Cocaine cues and dopamine in dorsal striatum: mechanism of craving in cocaine addiction.," *J. Neurosci.*, vol. 26, no. 24, pp. 6583–8, Jun. 2006.
- [60] K. Janse Van Rensburg, A. Taylor, T. Hodgson, and A. Benattayallah, "Acute exercise modulates cigarette cravings and brain activation in response to smoking-related images: an fMRI study.," *Psychopharmacology (Berl.)*, vol. 203, no. 3, pp. 589–98, Apr. 2009.

-
- [61] X. Xu, J. Wang, A. Aron, W. Lei, J. L. Westmaas, and X. Weng, "Intense passionate love attenuates cigarette cue-reactivity in nicotine-deprived smokers: an fMRI study." *PLoS One*, vol. 7, no. 7, p. e42235, Jan. 2012.
- [62] J. D. Sargent, M. Morgenstern, B. Isensee, and R. Hanewinkel, "Movie smoking and urge to smoke among adult smokers," vol. 11, no. 9, pp. 1042–1046, 2009.
- [63] F. J. McClernon, R. V. Kozink, and J. E. Rose, "Individual differences in nicotine dependence, withdrawal symptoms, and sex predict transient fMRI-BOLD responses to smoking cues," *Neuropsychopharmacology*, vol. 33, no. 9, pp. 2148–57, Aug. 2008.

12ANEXOS

Anexo I Test de Fag rstrom

Este test sirve para evaluar el grado de dependencia física de la nicotina. Está formado por 6 ítems con dos o cuatro alternativas de respuesta. La puntuación oscila entre 0 y 10.

Pregunta	Respuesta	Puntuaci�n
�Cu�nto tiempo despu�s de despertarse fuma su primer cigarrillo?	Menos de 5 minutos	3
	6-30 minutos	2
	31-60 minutos	1
	M�s de 60 minutos	0
�Encuentra dificultad para no fumar en los sitios donde est� prohibido (cine...)?	S�	1
	No	0
�Qu� cigarrillo le desagrada m�s dejar de fumar?	El primero	1
	Otros	0
�Cu�ntos cigarrillos fuma cada d�a?	M�s de 30	3
	21-30	2
	11-20	1
	Menos de 11	0
�Fuma m�s durante las primeras horas tras levantarse que durante el resto del d�a?	S�	1
	No	0
�Fuma aunque est� tan enfermo que tenga que guardar cama la mayor parte del d�a?	S�	1
	No	0

Test de Fagerstr m de dependencia de la nicotina (1991).

Resultados:

- Puntuación entre 0 y 4: El fumador es poco dependiente de la nicotina
- Puntuación de 5   6: El fumador tiene una dependencia media
- Puntuación entre 7 y 10: El fumador es altamente dependiente de la nicotina.

Anexo II Responsiva

Carta de consentimiento de participación voluntaria.

Estimado voluntario,

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la Estimulación Magnética Transcraneal Repetitiva (EMTr) en pacientes con dependencia moderada a la nicotina.

El estudio consiste en recibir una sesión de EMTr la cual consta de un tren de pulsos de baja frecuencia aplicados a una zona específica de la corteza cerebral. Seguido de esto debes ingresar al equipo de Imagen por Resonancia Magnética (IMR) para la obtención de imágenes cerebrales mientras se presentan estímulos visuales en la pantalla del resonador. Antes, después y durante la sesión de Resonancia se pedirá que respondas un breve cuestionario sobre sensaciones y estado de ánimo. El estudio completo consta de dos sesiones separadas por un lapso de una semana, durante toda su duración se te pedirá que lleves un registro del número de cigarros consumidos por día. Previo a la sesión de estimulación debes dejar de fumar con al menos 6hrs. de anticipación de lo contrario no podrás realizar la prueba.

El estudio no conlleva ningún riesgo a la salud y es completamente no invasivo. Por su partes los equipos de EMT e IMR han sido aprobados por la FDA* y están diseñados para desempeñarse en su función indicada sin causar ningún tipo de daño al paciente o usuario, sin embargo, pueden existir efectos secundarios menores entre los que se encuentran, dolores temporales de cabeza, cuello o dientes, cambios en la audición temporales, parestesia temporal y un muy raras ocasiones convulsiones.

Tu participación es voluntaria. La sesión de estimulación magnética tiene una duración aproximada de media hora seguida de un estudio de resonancia magnética de una duración similar. El proceso será estrictamente confidencial. Tienes el derecho de retirar el consentimiento para la participación en cualquier momento. Si tienes alguna pregunta sobre esta investigación, hazla saber.

Si deseas participar, firma esta hoja de consentimiento.

Autorización

He leído el procedimiento descrito arriba. El investigador me ha explicado el procedimiento del estudio y ha contestado mis preguntas.

Yo

(Nombre completo)

voluntariamente doy mi consentimiento para participar en este estudio que obtendrá imágenes de mi cerebro luego de una sesión de EMTr para evaluar *“El efecto de la EMTr de baja frecuencia en pacientes con dependencia moderada al tabaco”*

Firma del Voluntario.

*La FDA clasifica a los equipos de EMT repetitiva como equipos de clase II: Controles generales con controles especiales

Anexo III Escala Visual Analógica

TEST NO. _____

FECHA: _____

A continuación marca con una X sobre la línea el punto representaría la intensidad del sentimiento que estás experimentando:

1. ¿Qué tantas ganas tienes de fumar?

Ninguna _____ Máxima

2. ¿Qué tan triste te sientes?

Nada _____ Máximo

3. ¿Qué tan incómodo te sientes?

Nada _____ Máximo

4. ¿Qué tan contento te sientes?

Nada _____ Máximo

5. ¿Qué tan ansioso te sientes?

Nada _____ Máximo

6. ¿Qué tan enamorado te sientes? *

Nada _____ Máximo

Anexo IV Tablas de activaciones

Tabla 6 Lista completa de clusters de activación en el de 1° Nivel Efecto de la estimulación (n=20)

Lado	Área del encéfalo	AB	Coordenadas			T
			x	y	Z	
Relacionados con la session Activa						
I	Giro Frontal Inferior	10	-44	48	4	3.72
I	Sub-giral		-32	-34	28	3.68
I	Giro frontal superior	10	-22	54	26	3.66
D	Extra nuclear		8	-4	-12	3.57
I	Insula		-40	-40	20	3.53
I	Giro frontal medio	9	-38	34	34	3.51
I	Giro angular	40	-48	-68	42	3.48
I	Lóbulo parietal inferior	40	-58	-54	42	3.48
I	Lóbulo parietal inferior		-32	-76	48	3.44
D	Giro cingulado		20	-32	32	3.38
Relacionados con la sesión Sham						
D	Surco calcarino		24	-46	4	-3.78
I	Giro temporal medio	19	-58	-66	10	-3.77
D	Hipocampo		24	-14	-22	-3.61
D	Giro precentral	6	58	2	40	-3.41

Abreviación: AB = Area de Brodmann.

Prueba T ($p < 0.001$) unc. Cluster threshold of 4

Tabla 7 Lista completa de activaciones en el análisis de 2° Nivel Sesión ACTIVA (n=10)

Lado	Área del encéfalo	AB	Coordenadas			T
			x	y	Z	
Estímulos fumadores						
I	Giro Post-central		-50	-14	24	8.97
I	Giro frontal Inferior	46/10	-38	36	12	8.62
D	Giro Frontal Inferior	47	42	18	-16	7.36
D	Sub giral / Giro Cingulado		24	-30	36	7.23
D	Lóbulo Inferio-parietal	40	20	-6	56	6.15
D	Extra Nuclear		28	-28	24	5.19
D	Sub-giral		38	-2	20	5.18
D	Giro Frontal Inferior		42	40	10	5.13
I	Giro Post-central / Pre-central		-40	-24	36	4.88
D	Sub-giral	6	36	-54	50	4.67
Estímulos neutrales						
I	Giro fusiforme	37/20	-34	-42	-20	-7.96
I	Giro parahipocampal	19	-32	-52	-8	-6.42
D	Precúneo	7	20	-66	50	-6.40
I	Sub-lobar		-18	2	12	-5.21

Abreviación: AB = Area de Brodmann.

Prueba T pareada ($p < 0.001$) unc. Cluster threshold of 3

Tabla 8 Lista completa de activaciones en el análisis de 2° Nivel Sesión SHAM (n=10)

Lado	Área del encéfalo	AB	Coordenadas			T
			x	y	Z	
Estímulos fumadores						
D	Giro Occipital medial	37	48	-68	-8	6.78
D	Giro Post-central	2	52	-26	54	6.33
D	Giro Precentral	6	56	-6	44	5.95
I	Giro Post-central	2	-44	-36	62	5.64
Inter	Giro cingular medio		0	-20	44	5.4
D	Ventrículo lateral		-22	-40	12	5.15
D	Lóbulo temporal		42	-46	-6	5.12
D	Giro Precentral	6	54	0	36	5.12
D	Giro Pre-central	6	52	-6	50	5.12
I	Giro Temporal Inferior	20	-56	-10	-24	4.89
D	Giro frontal medial		40	2	58	4.85
I	Giro Temporal Inferior	20	-64	-16	-20	4.80
I	Lóbulo frontal	9	-2	56	16	4.67
Estímulos neutrales						
D	Giro Pre-central		38	-10	28	-5.15
D	Giro Pre-central	4	24	-24	60	-6.33
I	Sub-giral		-30	10	20	-6.52
I	Precúneo	5	-14	-40	52	-7.19
D	Giro Parahipocampal	19	18	-56	-12	-7.23
I	Sub-lobar		-26	-62	8	-7.57

Abreviación: AB = Area de Brodmann.

Prueba T pareada ($p < 0.001$) unc. Cluster threshold of 3

Tabla 9 Lista completa de activaciones en el análisis de 2° Nivel efecto global (n=20)

Lado	Área del encéfalo	AB	Coordenadas			T
			x	y	Z	
Estímulos fumadores						
D	Giro post-central	2	52	-26	54	5.16
I	Giro frontal inferior		-36	34	12	4.89
D	Cuña	18	18	-96	12	4.70
D	Giro occipital medio		46	-68	-12	4.46
D	Giro post-central		54	-16	26	4.25
D	Giro Occipital medio		40	-74	0	4.10
D	Giro frontal medial	10	4	52	16	3.98
D	Giro lingual	18	6	-84	-6	3.94
D	Giro frontal inferior	47	46	38	-14	3.87
D	Giro fusiforme		44	-60	-16	3.82
Estímulos neutrales						
D	Giro parahipocampal	37	26	-38	-16	-4.45
I	Giro parahipocampal	37	-34	-50	-8	-4.33
D	Giro Angular	39	40	-78	28	-4.00
D	Giro parahipocampal	19	20	-56	-8	-3.95
I	Fluido Cerebro-Espinal		-28	-62	8	-3.85

Abreviación: AB = Area de Brodmann.

Prueba T ($p < 0.001$) unc. Cluster threshold of 3