

**Optimización de la Estimulación  
Magnética del Nervio Facial para Modular  
el Flujo Sanguíneo Cerebral.**

Tesis que presenta:

Ing. Olivia del Carmen Sánchez Barrios

Para obtener el grado de:

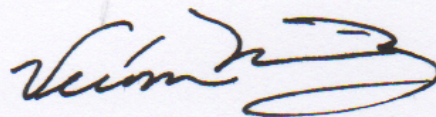
Maestra en Ciencias (Ingeniería Biomédica)

Asesor:

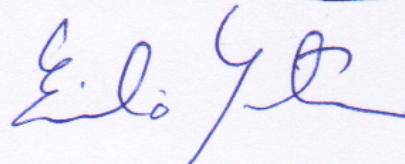
Dr. Emilio Sacristán Rock

Jurado

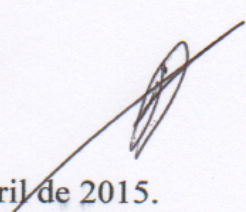
Presidente: Dra. Verónica Medina Bañuelos UAM-I



Secretario: Dr. Emilio Sacristán Rock UAM-I



Vocal: Dr. Daniel San Juan Orta INNN



México, D.F. a 30 de Abril de 2015.

# Dedicatoria

---

*A mi familia  
por ser mi apoyo incondicional.*



# Reconocimientos

---

El presente trabajo se llevó a cabo bajo la dirección del Dr. Emilio Sacristán Rock y el Dr. Mark Borsody en el Centro Nacional de Investigación en Imagenología e Instrumentación Médica (CI<sup>3</sup>M) de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa; se contó con el apoyo de la beca de posgrado CONACyT y con el patrocinio de Northern Neurosciences.

Se reconoce el apoyo del equipo de trabajo del CI<sup>3</sup>M: Al técnico radiólogo responsable Alejandro Sánchez por su colaboración en todo el estudio. Al Ing. Rafael Lara y a la Ing. Fernanda Maldonado por el apoyo técnico con el sistema de neuronavegación. Al Ing. Andrés Morón por su participación en la parte administrativa y al Ing. Martín Ramírez por su colaboración en el estudio.

Se reconoce la asesoría académica y el apoyo en el desarrollo experimental de la M. en C. Andrea García Quintanar y el Ing. César García Benítez. Se reconoce la asesoría en el desarrollo y revisión de la Tesis a la M. en C. Martha D. Sánchez Barrios. Se agradece el apoyo con las imágenes del nervio facial al Dr. Axayacatl Morales.

Se agradece al programa de Becas para Eventos de Difusión y de Investigación en Ciencia y Tecnología de la UAM-I, al posgrado en Ingeniería Biomédica CBI y al CI<sup>3</sup>M por su apoyo para la asistencia al VI Congreso Latinoamericano de Ingeniería Biomédica (CLAIB2014) realizado en Paraná, Entre Ríos, Argentina. Concluyendo en la publicación de un artículo en Springer (IFMBE Proceeding) con el tema “Best Parameters for Magnetic Stimulation of the Facial Nerve to Improve Cerebral Blood Flow”.

# Índice

---

Dedicatoria.....	1
Reconocimientos.....	2
Índice.....	3
Índice de figuras.....	6
Resumen.....	8
1. Introducción.....	9
2. Antecedentes.....	11
2.1 Irrigación cerebral y el accidente cerebrovascular.....	11
2.1.1 Accidente Cerebrovascular.....	13
2.2 Nervio Facial.....	20
2.2.1 Ganglio Geniculado.....	22
2.3 Estimulación Magnética Transcraneal.....	23
2.4 Resonancia Magnética.....	25
2.4.1 Perfusión por Resonancia Magnética.....	26
2.4.2 Angiografía por Resonancia Magnética.....	28
2.4.3 Q-Flow.....	29
2.5 Justificación del modelo experimental con cerdos.....	30



2.6 Estudios pre-clínicos previos .....	32
2.6.1 Modelo en Ovejas .....	32
2.6.2 Modelo en perros con ACV isquémico.....	34
2.6.3 Modelo en cerdos con ACV hemorrágico .....	34
3. Objetivos .....	35
3.1 Objetivo general.....	35
3.2 Objetivos específicos .....	35
4. Metodología .....	36
4.1 Modelo experimental .....	36
4.1.1 Ensayo con dos sesiones de estimulación.....	37
4.1.2 Ensayo con una sola sesión de estimulación.....	39
4.2 Preparación y procedimiento anestésico.....	40
4.3 Estimulación .....	40
4.4 Evaluación .....	43
4.4.1 Evaluación de las imágenes de Perfusión .....	43
4.4.2 Evaluación de las Angiografías .....	45
4.4.3 Evaluación de las secuencias de Q-Flow .....	48
5. Resultados .....	49
5.1 Resultado de imágenes de perfusión.....	49
5.2 Resultado de Angiografías.....	53

5.3 Resultado de Q-Flow .....	54
6. Discusión.....	55
7. Conclusiones y perspectivas .....	58
7.1 Conclusión .....	58
7.2 Perspectivas .....	59
7.3 Trabajo futuro .....	60
Referencias.....	61
ANEXOS .....	66
ANEXO 1. Protocolo de estimulación con dos sesiones de estimulación.....	67
ANEXO 2. Protocolo de estimulación del ensayo con una sesión de estimulación.....	68
ANEXO 3. Test neurológico.....	69

# Índice de figuras

---

Figura 1. Circulación arterial cerebral .....	12
Figura 2. Accidente cerebrovascular hemorrágico. ....	16
Figura 3. Accidente cerebrovascular isquémico. ....	18
Figura 4. Nervio facial .....	21
Figura 5. Ganglio geniculado y estructuras vecinas. ....	22
Figura 6. Campos electricos inducidos por una bobina de estimuación. ....	25
Figura 7. Escáner de Resonancia Magnética .....	27
Figura 8. Curva característica de la Perfusión . ....	28
Figura 9. Nervio facial en cerdos.....	31
Figura 10. Hemicara derecha de cerdo. Estructura anatómica.....	31
Figura 11. Cambios en el FSC debido a la variación de la frecuencia y la potencia de estimulación. ....	33
Figura 12. Ensayo con dos sesiones de estimulación. ....	38
Figura 13. Ensayo con una sola sesión de estimulación .....	39
Figura 14. Marcadores de referencia para la neuronavegación. ....	41
Figura 15. Posición de la bobina de estimulación.....	42
Figura 16 Neuronavegacion para ubicación del ganglio geniculado .....	42



Figura 17. Efecto de la estimulación observado en imágenes de perfusión con el software de Philips...	43
Figura 18. Medición del índice de perfusión observado con el software de Osirix. ....	44
Figura 19. Anatomía de arteria carótida interna en cerdos. ....	45
Figura 20. Angiografía pre y post estimulación. Vasodilatación de arterias principales. ....	46
Figura 21. Segmentación de arterias carótidas internas.....	46
Figura 22. Reconstrucción volumétrica de las áreas de las arterias carótidas internas.....	47
Figura 23. Ubicación del espacio de medición de las áreas de las arterias carótidas internas.....	47
Figura 24. Análisis de Q-Flow .....	48
Figura 25. Imágenes de perfusión que muestran el efecto de la estimulación en el cerebro. ....	50
Figura 26. Interacción entre parámetros. ....	51
Figura 27. Incremento del flujo sanguíneo cerebral a lo largo del tiempo. ....	52
Figura 28. Comparación del efecto de una estimulación vs aplicar una segunda estimulación. ...	53
Figura 29. Resultado de la medición de áreas de las arterias carótidas internas. ....	54
Figura 30. Flujo sanguíneo en arterias carótidas internas.....	54

# Resumen

---

**Introducción:** La estimulación magnética del nervio facial ha demostrado, en modelos animales, tener propiedades vasoactivas sobre las arterias principales de irrigación cerebral. No obstante, se desconocen los parámetros óptimos de estimulación que permitan mejorar la perfusión cerebral durante los modelos animales de enfermedades vasculares cerebrales.

**Objetivo:** Determinar los parámetros óptimos de potencia, número de sesiones y tiempo de estimulación magnética sobre el ganglio geniculado del nervio facial de cerdos sanos para modificar el flujo sanguíneo cerebral.

**Métodos:** Se realizaron experimentos en cerdos raza Yorkshire. Se utilizó un diseño factorial completo de 2X3 para evaluar el efecto de estimular magnéticamente al ganglio geniculado por 2, 3.5 y 5 minutos utilizando parámetros de potencia en tres factores: 65%, 80% y 95% de la potencia total suministrada por el equipo (6.5 cm cooled figure-8 TMS coil, Magventures, Mag Pro, Cool B65), con una frecuencia de pulsos bifásicos a 10 Hz (trenes de impulsos rápidos de 10 pulsos/s) y se estimuló en dos ocasiones (100 min de intervalo). También se realizaron tres ensayos con sólo una estimulación utilizando los parámetros de 95% de potencia durante 2 minutos de estimulación. Los resultados fueron evaluados por imágenes de perfusión por resonancia magnética y la estimulación fue asistida por un equipo de neuronavegación.

**Resultado:** Se observó un incremento del flujo sanguíneo cerebral de los cerdos en aproximadamente 70% sobre el estado basal en todas las combinaciones de los parámetros utilizados comenzando a decaer pasados 90 minutos. Con la aplicación de una segunda estimulación se prolongó el estado de incremento del flujo sanguíneo cerebral por más de 3.5 horas.

**Conclusión:** Una sesión de estimulación magnética del ganglio geniculado en cerdos ocasiona un incremento del flujo sanguíneo cerebral, el cual incrementa en duración al recibir una segunda estimulación. No se demostró diferencia significativa entre los parámetros de estimulación.

# 1. Introducción

---

El Accidente Cerebro Vascular (ACV) representa una de las principales causas de mortalidad en México y en los Estados Unidos de América [1], siendo el tiempo de atención un factor determinante tanto en los índices de mortalidad como en las secuelas incapacitantes. En casos de ACV isquémicos se produce una respuesta natural en el organismo, la circulación colateral. Esta respuesta natural ayuda a mantener el Flujo Sanguíneo Cerebral (FSC) en niveles mínimos funcionales reduciendo la velocidad de propagación de la isquemia [2]. Una forma de contribuir a la circulación colateral es por medio del incremento en la perfusión cerebral al aumentar el FSC a través de la Estimulación Magnética (EM) del nervio facial, técnica que ha demostrado ser efectiva y tener el beneficio de su naturaleza no-invasiva [3]. De tal manera que si aplicamos esta estimulación en pacientes que presentan primeros síntomas de ACV isquémico, en una unidad de urgencias, podríamos retrasar la propagación de la zona infartada [4], dando así una ventana de tiempo mayor para ser atendidos.

Aunque se han hecho progresos considerables en cuanto a la aplicación de EM al nervio facial para el incremento del FSC, muchas cuestiones importantes permanecen todavía sin resolver. Surge, por tanto, la necesidad de comprender la relación entre los parámetros adecuados de EM y la respuesta fisiológica resultante. Los parámetros ideales de estimulación son aquellos



que maximizan el efecto sobre FSC tanto en magnitud y duración, en tanto que minimizar la potencia y tiempo de EM aplicada es necesario para reducir el riesgo del paciente, intolerabilidad de la técnica y requerimientos técnicos del equipo. También nos concentramos en observar el efecto de la estimulación en dos sesiones, esto es, aplicando una segunda estimulación al mismo sujeto con las mismas características que la primera estimulación. Este trabajo tiene como objetivo proporcionar una mejor base para la comprensión de estos parámetros, evaluando potencia, tiempo y número de sesiones de estimulación.

Con la intención de desarrollar un dispositivo clínico no invasivo de EM para aumentar el FSC, como un tratamiento adyuvante para la atención temprana en el ACV, se evalúan los efectos de tres distintos parámetros de estimulación en una muestra de 30 ensayos con cerdos Yorkshire sanos a través de imágenes de perfusión por Resonancia Magnética (RM), utilizando gadolinio como medio de contraste, además de aplicar una técnica de neuronavegación como guía en la aplicación del estímulo.

La estructura general de este estudio consiste primeramente en una revisión de los antecedentes en la que, para examinar a detalle los factores que influyen en casos de ACV, se abordará una revisión rápida de la irrigación cerebral así como las técnicas de medición utilizadas en este estudio, la técnica de EM y los antecedentes directos reportados. En un segundo capítulo definimos los objetivos para proceder con la metodología. Para la comprensión de resultados, este apartado se dividió en el análisis del cambio en el FSC dependiendo las técnicas de evaluación. Finalmente se proporciona la discusión, conclusión y una perspectivas para futuras investigaciones.

## 2. Antecedentes

---

### 2.1 Irrigación cerebral y el accidente cerebrovascular

El FSC debe aportar oxígeno, glucosa y otros nutrientes al tejido nervioso cerebral, y eliminar dióxido de carbono, ácido láctico y residuos metabólicos. El cerebro está irrigado por sangre arterial procedente de las dos arterias carótidas internas y las dos arterias vertebrales. El aporte de sangre a la mitad del cerebro procede de la arteria carótida interna y de la arteria vertebral de este lado y sus respectivos flujos se juntan en la arteria comunicante posterior en el punto en el que la presión de las dos es igual y no se mezclan (Figura 1). El polígono de Willis también permite que el flujo sanguíneo atraviese la línea media, como se observa cuando la arteria carótida interna o vertebral de un lado está ocluida [5]. Las venas cerebrales son de pared fina sin tejido muscular y carecen válvulas, todas salen del encéfalo y van al espacio subaracnoideo donde convergen en los senos duros, que se encuentran entre las capas perióstica y meníngea de la dura.

En el adulto la masa cerebral es de 1,5 Kg y recibe un flujo sanguíneo de 750 ml/min (15-20 % del gasto cardíaco) (45-65 ml/100g/min). El FSC es directamente proporcional a la presión de perfusión cerebral (PPC) e inversamente proporcional a las resistencias vasculares cerebrales. Existen diversos métodos de medición del FSC, aunque no son empleados en clínica. Una forma indirecta de determinar el FSC es mediante el Doppler Transcraneal (DTC); con este monitor se determina la velocidad de flujo sanguíneo de la arteria insonada.

### Circulación Arterial del Cerebro, Incluidas las Arterias Carótidas

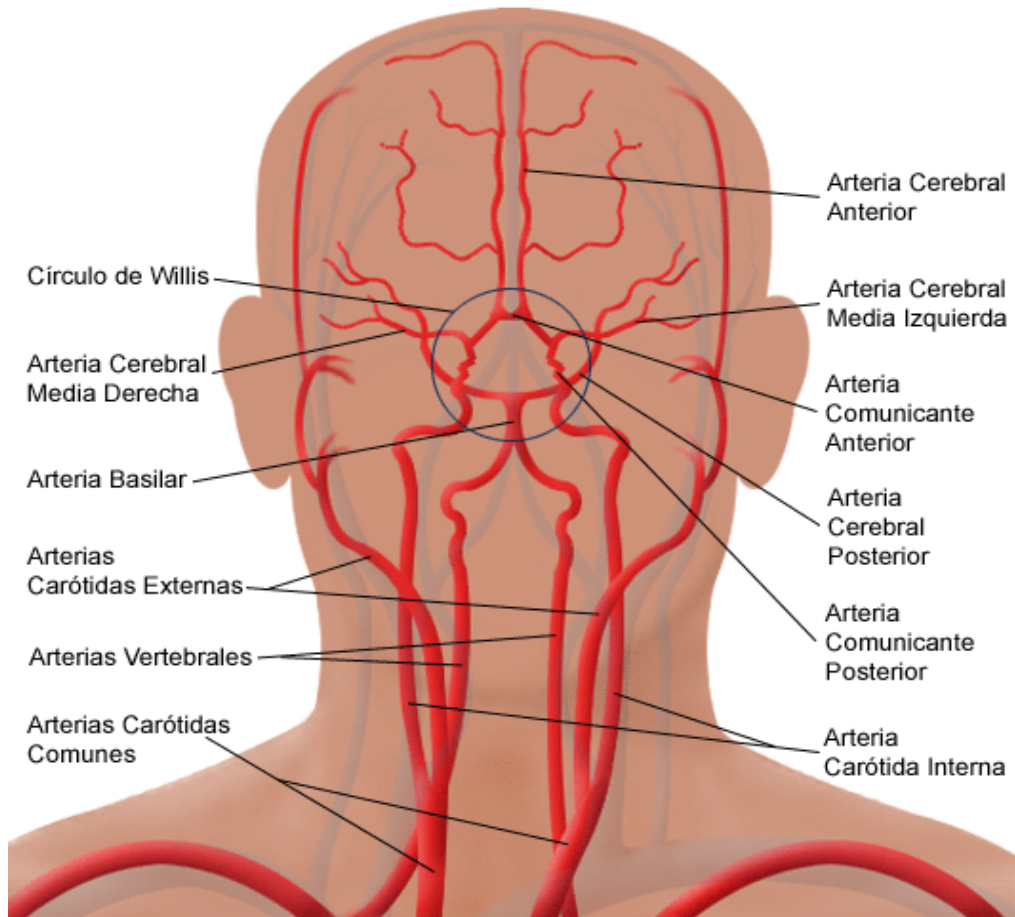


Figura 1. Circulación arterial cerebral

El factor más importante para que la sangre fluya a través del cerebro es la presión sanguínea arterial, a la cual se oponen factores como un aumento de la presión intracraneal, un aumento de la viscosidad de la sangre o una estenosis del diámetro vascular. Se ha observado mediante PET, que un aumento en la actividad neuronal en diferentes partes del cerebro produce un aumento



local en el flujo sanguíneo, por ejemplo, la visión de un objeto aumenta el consumo de oxígeno y de glucosa en la corteza cerebral de los lóbulos occipitales. Esto da lugar a un aumento en las concentraciones locales de CO<sub>2</sub> y iones H<sup>+</sup>, y un aumento local en el flujo sanguíneo [5].

El principal factor que contribuye a la resistencia vascular cerebral es el diámetro de los vasos sanguíneos cerebrales. La influencia vasodilatadora más poderosa sobre los vasos sanguíneos cerebrales es un aumento en el dióxido de carbono; una disminución de la concentración de oxígeno también produce vasodilatación [5]. Otro potencial vasoactivo se encuentra en las fibras parasimpáticas de los vasos cerebrales, en términos del control de la función cerebral, que pueden producir un aumento en el FSC cuando son estimuladas eléctricamente [6].

El cerebro es el principal centro de control del organismo, nos permite desarrollar diversas actividades fisiológicas (oír, saborear, oler, hablar, caminar, etc.) y cognitivas (pensamientos, emociones, memoria, juicio, conciencia, etc.) a través de las miles de millones de células nerviosas que lo componen [7]. Las células nerviosas del cerebro necesitan un suministro constante de oxígeno y glucosa, los cuales son transportados por la sangre; cuando la sangre no puede llegar a ciertas partes del cerebro, se interrumpe el suministro de oxígeno a esas zonas, a esto se le denomina isquemia. Sin oxígeno, las células cerebrales mueren, cuanto más tiempo esté el cerebro privado de sangre, más grave será el daño al cerebro. A la zona de tejido muerto ocasionado por la isquemia se le denomina infarto.

### 2.1.1 Accidente Cerebrovascular

La circulación cerebral se ve afectada por enfermedades caracterizadas por manifestaciones de episodios de carácter agudo. Existe cierta controversia sobre la nomenclatura más idónea para designarlas, se utilizan tanto las denominaciones de accidente vascular cerebral (AVC) o accidente cerebro vascular (ACV), como las más imprecisas de ictus (afectación aguda) o apoplejía (parálisis aguda), que han sido sancionadas por la práctica, tanto en español como en inglés, en el que se emplea el término stroke (“golpe”). El ACV es un tipo de enfermedad que

afecta a los vasos sanguíneos que proporcionan irrigación al cerebro. Los síntomas pueden aparecer de forma gradual o repentina, pero las causas subyacentes de un accidente cerebrovascular generalmente están presentes muchos años antes.

La OMS describe al ACV como el desarrollo rápido de signos clínicos de disturbios de la función cerebral o global, con síntomas que persisten 24 horas o más, o que llevan a la muerte con ninguna otra causa evidente que el origen vascular. El ACV puede presentarse de dos formas: 1) hemorrágica, que representa el 15% de los casos, y que a su vez, dependiendo de su extensión y localización puede ser un hematoma intraparenquimatoso (HIC), hematoma lobar o una hemorragia subaracnoidea (HSA). 2) La forma isquémica del ACV representa el 85% de los casos, siendo sus etiologías: un 20% por arteriosclerosis, un 20% por embolismo cardíaco, un 25% por enfermedad de arterias penetrantes que provocan un infarto lacunar, un 30% es criptogénico y un 5% son inusuales (estados protrombóticos, Disecciones, arteritis, drogas, etc.).

El Departamento de Salud Pública de la Facultad de Medicina de la UNAM reporta que el ACV contribuye en gran medida a las estadísticas de morbilidad en México así como a nivel mundial teniendo una alta tasa de incidencia, graves secuelas incapacitantes y un importante índice de letalidad. En el 2003 ocupó el sexto lugar como causa de muerte en personas de 15 a 64 años con una tasa de 9.41 por 100,000 habitantes y contribuyendo al 3.6% de las defunciones. En el grupo de personas de 65 y más años el AVC fue la tercera causa de muerte (sólo por abajo de la enfermedad isquémica del corazón y la diabetes) con una tasa de 387.9 por 100,000 habitantes, contribuyendo al 8.2% de las muertes [8]. El Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS) reporta, para un periodo del 2000 a 2008, que la mortalidad general en México el ACV ocupó el 6to lugar correspondiendo a un 5.8% de las defunciones [1]. Estudios realizados en el Hospital General de México sugieren que un 9.5%, del índice de muertes por ACV reportado, puede estar subvalorado dada la gran cantidad de muertes que ocurren antes de llegar al Hospital. Está reportado que la incidencia es de 22 por cada 10,000 en individuos de 45 a 54 años de edad y aumenta a 83 por cada 10,000 de 65 a 74 años de edad [9].

El ACV es la tercera causa de muerte en los Estados Unidos en gran parte del mundo occidental, y es la causa principal de invalidez en adultos; the National Stroke Association reporta una tasa de letalidad de 21%, señalando que los sobrevivientes presentan de manera muy frecuente secuelas severas y un mayor riesgo de un nuevo accidente letal. Cada año se informan aproximadamente 795 000 casos de ACV, dos tercios de ellos son iniciales y un tercio recurrente [10].

### **2.1.1.1 ACV hemorrágico**

Un ACV hemorrágico se produce cuando se rompe una arteria en el cerebro, la sangre pasa al tejido circundante y perturba no sólo el suministro de sangre sino el equilibrio químico delicado que las neuronas requieren para funcionar (Figura 2). Los ACV hemorrágicos representan aproximadamente un 20 por ciento de todos los ataques cerebrovasculares. La hipertensión o la alta presión sanguínea aumenta el riesgo de que una pared arterial quebradiza ceda y libere sangre dentro del tejido cerebral circundante.

El ACV hemorrágico puede ser de 2 tipos, dependiendo del espacio del cerebro en donde se derrama la sangre: cuando un vaso sanguíneo dentro del cerebro derrama sangre en el propio cerebro se produce una *hemorragia intracerebral*; cuando la hemorragia se produce bajo las meninges o membranas exteriores del cerebro al espacio delgado lleno de fluido que rodea al cerebro se le conoce como *hemorragia subaracnoidea*. El espacio subaracnoideo separa a la membrana aracnoidea de la membrana pía mater subyacente, contiene un líquido claro (*fluido cerebroespinal*), así como los vasos sanguíneos pequeños que suministran sangre a la superficie exterior del cerebro. Puesto que el fluido cerebroespinal fluye a través del cráneo, dentro de los espacios del cerebro, la hemorragia subaracnoidea puede conducir a un extenso daño en todo el cerebro. De hecho, la hemorragia subaracnoidea es el más mortal de todos los accidentes cerebrovasculares [11]. En ocasiones, a este cuadro se añade un déficit neurológico focal, que se produce cuando la hemorragia se introduce en el parénquima cerebral y/o cuando a la hemorragia subaracnoidea se asocia una isquemia cerebral focal por vasoespasmo de las grandes arterias intracraneales (carótida, cerebral media).

La isquemia cerebral se produce de forma aguda a menudo en combinación con hemorragia intracraneal y convulsiones. También puede producirse vasoespasmo de la arteria cerebral de una manera retardada después de sufrir una lesión cerebral traumática; el vasoespasmo es la mayor causa de morbilidad a pacientes que sobreviven a la rotura de un aneurisma cerebral. Los cambios en vasos cerebrales en el vasoespasmo se han atribuido a la contracción del músculo liso vascular y a engrosamiento de la pared del vaso. No se sabe con certeza cuál es su etiología, pero se cree que el desencadenante sería una o varias sustancias vasoactivas contenidas en la sangre acumulada en las cisternas basales, uno de los elementos implicados puede ser la oxihemoglobina [12].

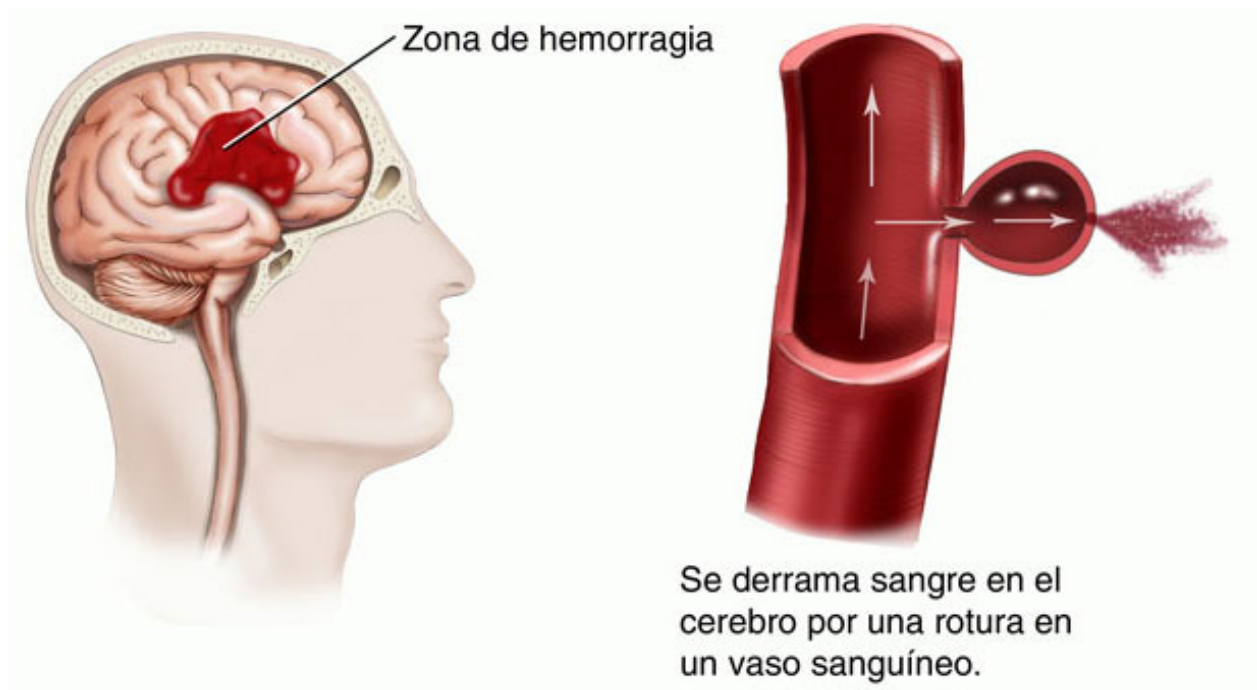


Figura 2. ACV hemorrágico.

### 2.1.1.2 ACV isquémico

Un ACV isquémico ocurre por el bloqueo de una arteria de irrigación principal al cerebro, reduciendo repentinamente el flujo de sangre y ocasionando un infarto en el cerebro. Aproximadamente, un 80 por ciento de todos los accidentes cerebrovasculares son de tipo isquémico. Los coágulos de sangre son la causa más común de bloqueo arterial y de infarto

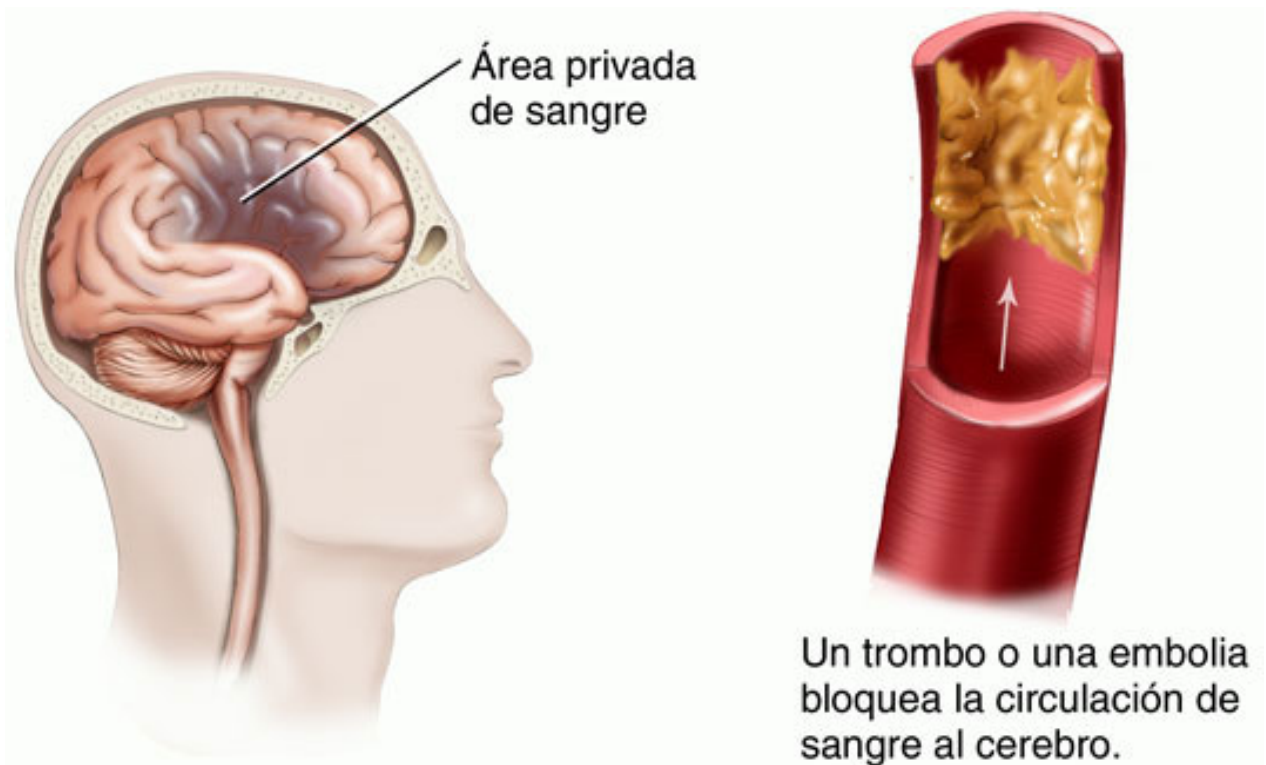
cerebral. El proceso de coagulación es necesario y beneficioso en todo el cuerpo debido a que detiene la hemorragia y permite reparar las áreas dañadas de las arterias o de las venas, sin embargo, cuando los coágulos de sangre se forman en el lugar incorrecto dentro de una arteria, ocasionan una lesión devastadora al interferir con el flujo normal de sangre (Figura 3). Los problemas de coagulación se hacen más frecuentes a medida que las personas avanzan en edad.

El FSC es 55mL/100g/min para un adulto promedio. Por debajo de 10-15 mL/100gr/min se produce daño neural irreversible; esto tan sólo después de 30 min. En la región que rodea la zona dañada, el FSC se encuentra entre 15-35 mL/100gr/min, a estos niveles el metabolismo celular se detiene pero la célula se mantiene viable; esta región se denomina zona de penumbra [13]. Como respuesta natural ante un ACV isquémico, se produce la circulación colateral, capaz de mantener normofuncionantes extensas áreas de tejido cerebral, o permitir un flujo sanguíneo mínimo (10-20 mL/100 gr/min) que prolongue un estado de penumbra isquémica reversible. Mejorar el FSC es una forma de facilitar esta respuesta natural, provocando la dilatación de las arterias cerebrales. La optimización de la homeostasis sistémica contribuye a una mejor disposición del organismo para poder emplear esta circulación colateral.

La circulación colateral puede ser evaluada por técnicas avanzadas de neuroimagen, proporcionando información sobre el estado de los vasos colaterales y el flujo sanguíneo colateral, lo cual podría atenuar los efectos de la oclusión arterial. En pacientes con ACV isquémico, la presencia de una buena circulación colateral representa menores áreas de tejido infartado, sosteniendo el tejido cerebral durante horas después de la oclusión de las arterias principales en el cerebro. Por lo tanto, el aumento o mantenimiento de flujo colateral es un recurso potencial para el tratamiento de ACV isquémico; tal es el caso de las medidas presoras (fenilefrina, catéteres para realizar oclusión aórtica abdominal transitoria) y vasodilatadoras (donantes de óxido nítrico, respuesta parasimpática a través de la estimulación del ganglio esfenopalatino) [2].

Existen numerosas técnicas diagnósticas y herramientas de imágenes para ayudar a diagnosticar la causa de un accidente cerebrovascular con rapidez y exactitud. El primer paso en el diagnóstico es un breve examen neurológico, identificar los principales síntomas de un posible

accidente cerebrovascular [14]. Generalmente se realizarán pruebas de sangre, un electrocardiograma y exploraciones de tomografía axial computarizada (TAC). Una prueba clínica que ayuda a los médicos a juzgar la gravedad de un accidente cerebrovascular es la Escala de Accidente Cerebrovascular de NIH Normalizada, (NIH Stroke Scale), formulada por el Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Accidentes Vasculares (National Institute of Neurological Disorders and Stroke - NINDS). Los profesionales de la salud utilizan dicha escala para medir los déficits neurológicos del paciente pidiéndole que responda a preguntas y realice varias pruebas físicas y mentales. Otras escalas incluyen la Escala de Coma de Glasgow, la Escala de Hunt y Hess, la Escala de Rankin Modificada y el Índice de Barthel.



*Figura 3. ACV isquémico.*

Las técnicas diagnósticas de imágenes desempeñan un papel central en la evaluación de pacientes con síntomas de ACV. Las imágenes de TAC o Resonancia Magnética (RM) se utilizan para diferenciar una isquemia de un ACV hemorrágico. Una TAC crea una serie de imágenes transversales de la cabeza y del cerebro ayudando a descartar rápidamente una hemorragia, y la

RM de difusión ponderada puede mostrar evidencia muy temprana del infarto. La angiografía por TAC y angiografía por RM añaden identificación de las oclusiones arteriales de grandes vasos. Además de estas aplicaciones tradicionales de formación de imágenes, los estudios de perfusión proporcionan información sobre la viabilidad del tejido en un ACV isquémico. Esta información puede ser útil para seleccionar a los pacientes susceptibles de beneficiarse de la terapia de reperfusión y excluir a aquellos que puedan verse perjudicados [15].

Si el accidente cerebrovascular es ocasionado por una hemorragia, una TAC puede mostrar pruebas de hemorragia en el cerebro casi inmediatamente después de que aparecen los síntomas del accidente cerebrovascular. La hemorragia es la razón principal para evitar ciertos tratamientos a base de medicamentos, tales como la terapia trombolítica, la cual no debe utilizarse debido a que este tratamiento pudiera aumentar la hemorragia y empeorar un ACV hemorrágico.

El estudio de imágenes de RM utiliza campos magnéticos para detectar cambios sutiles en el contenido de tejido cerebral. Un efecto del accidente cerebrovascular es un aumento en el contenido de agua en las células del tejido cerebral, condición llamada edema citotóxico. Las imágenes de RM pueden detectar el edema a las pocas horas después de la aparición del accidente cerebrovascular. El beneficio del estudio realizando imágenes de RM en comparación a las imágenes de TAC es que en las primeras se pueden detectar mejor los pequeños infartos, inmediatamente después de la aparición del ACV [11].

El tratamiento para casos de ACV isquémico se centra en remover el coagulo de sangre que causa la oclusión. Los tratamientos diseñados para revertir o disminuir el infarto del tejido incluyen: apoyo médico, trombólisis y técnicas endovasculares, antiplaquetarios y protección neurológica [16].



## 2.2 Nervio Facial

El nervio facial (VII par craneal) es mixto, aferente y eferente (figura 4). Es el nervio del segundo arco faríngeo, inervando estructuras que de él se originan. Presenta dos raíces, una motora y otra sensitiva/parasimpática (nervio intermedio). Se origina en el ganglio geniculado situado a nivel del primer codo intrapetroso del trayecto del VII, forma las fibras sensitivas del nervio intermediario de Wrisberg, que penetran por el surco bulboprotuberancial y acaban en la parte superior del núcleo del fascículo solitario. Presenta anastomosis con el ganglio ótico y el esfenopalatino, X, IX, nervio lingual, auriculotemporal, plexo cervical superficial, VIII, V.

Los cuerpos celulares de las neuronas preganglionares están ubicados en el tronco cerebral, las fibras parasimpáticas siguen el recorrido del III, VII, IX y X pares craneales hasta alcanzar sus órganos objetivo. Toda la inervación motora parasimpática para la cabeza hace sinapsis, exactamente una vez, en uno de los cuatro ganglios craneanos (ganglio ciliar, pterigopalatino o esfenopalatino, submandibular, ótico y el nervio vago).

Se ha demostrado en modelos animales que la estimulación eléctrica del nervio facial incrementa el flujo sanguíneo cerebral [17-22]. En un estudio con monos en el que se estimuló eléctricamente el nervio petroso mayor, que conecta con el ganglio pterigopalatino a través de la sinapsis con el ganglio parasimpático, se observó vasodilatación de las arterias cerebrales anterior, media y posterior en el lado estimulado [23]. Esto sugiere fuertemente la implicación de los componentes parasimpáticos que se originan en el tronco del nervio facial cerca del ganglio geniculado para formar los nervios petroso, que luego inervan las grandes arterias cerebrales a través de la ganglio pterigopalatino.

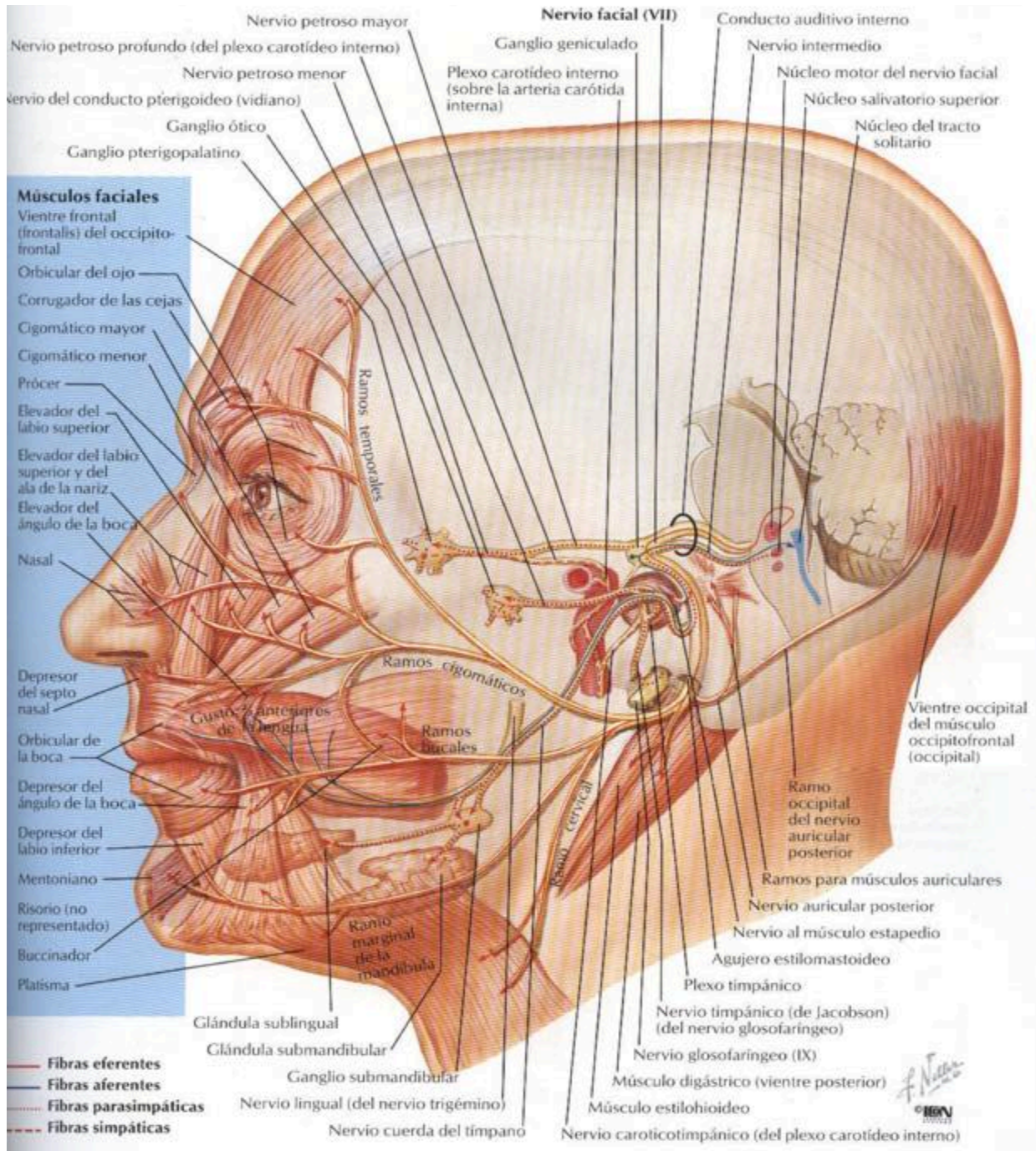


Figura 4. Nervio facial  
 Imagen tomada de Frank H. Netter.



## 2.2.1 Ganglio Genuculado

El ganglio genuculado es un haz de fibras neuronales en forma de L que se localiza en el canal facial de la cavidad petrosa del temporal. La palabra genuculado proviene del latín *genu* que significa rodilla (Figura 5). El ganglio genuculado es uno de tantos ganglios de la cabeza y el cuello y, al igual que éstos, su estructura es de distribución bilateral, es decir que a cada lado de la cabeza hay un ganglio genuculado; recibe fibras de los elementos motores, sensoriales y parasimpáticos del nervio facial y, a su vez, manda fibras que inervan las glándulas lagrimales, submandibulares y sublinguales, así como la lengua, el paladar, la faringe, el conducto auditivo externo, el estapedio, el digástrico (sección posterior), el estilohioideo y los músculos de la expresión facial [24,25].

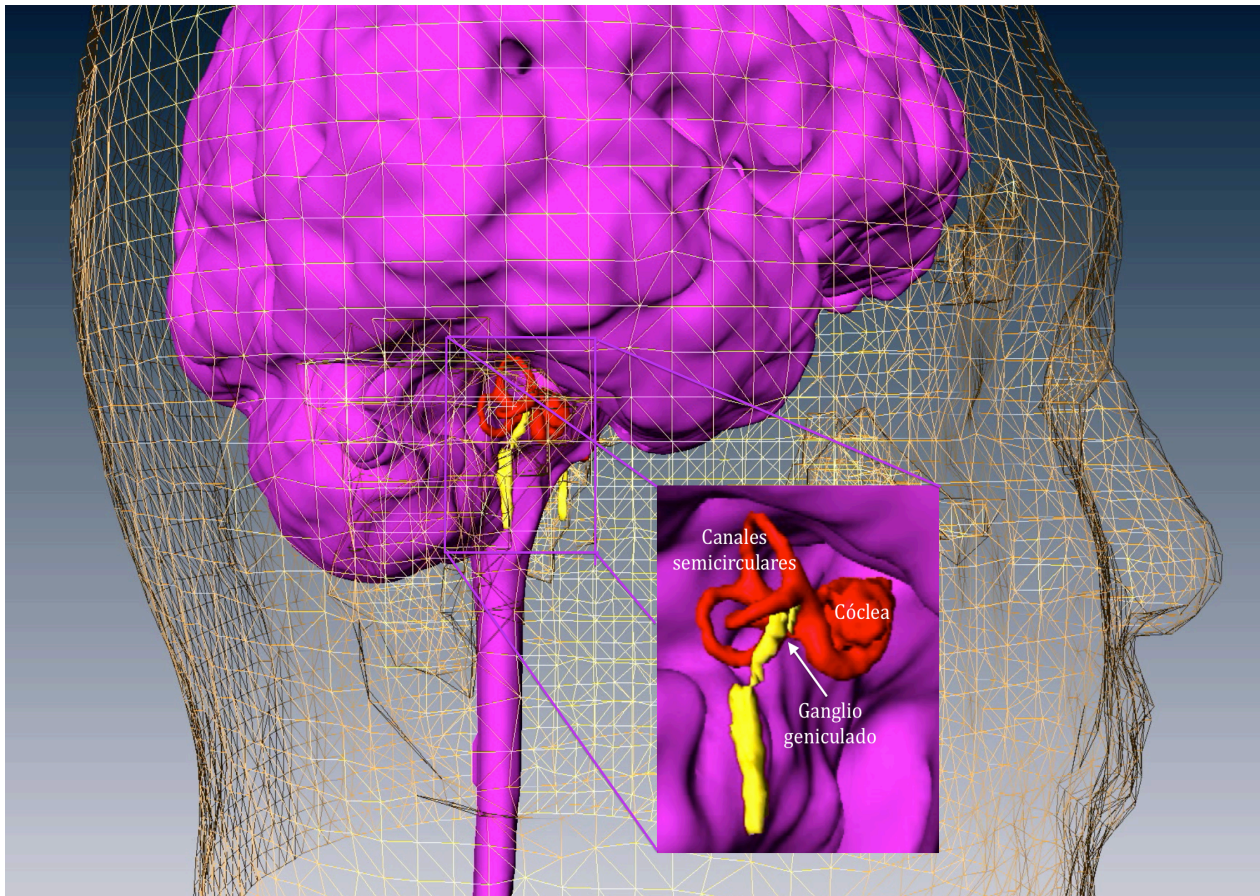


Figura 5. Ganglio genuculado y estructuras vecinas.

El ganglio geniculado alberga neuronas sensitivas especiales para el gusto, de las fibras provenientes de la lengua a través de la cuerda del tímpano y de las fibras que provienen del paladar a través del nervio petroso mayor. La información sensorial y parasimpática del ganglio geniculado pasa al nervio intermediario, mientras que las fibras motoras van propiamente al nervio facial. El nervio petroso mayor, que trae tanto fibras sensoriales como parasimpáticas preganglionares, se origina en la parte anterior del ganglio.

## 2.3 Estimulación Magnética Transcraneal

La estimulación magnética transcraneal (EMT) es un método no invasivo indoloro a través del cual se estimula magnéticamente el tejido nervioso (corteza cerebral, médula espinal, vías motoras centrales y nervios periféricos) y permite interferir de forma controlada la actividad normal del cerebro humano [26]. Este método ha mostrado ser un tratamiento eficaz y seguro en enfermedades como el trastorno de estrés postraumático, trastorno obsesivo-compulsivo y en otras patologías no psiquiátricas. De forma simplificada, se puede decir que la EMT produce una corriente eléctrica específicamente en zonas concretas del cerebro; que en función del tipo de campo aplicado producirá aumento o disminución de la excitabilidad neuronal, y que además produce cambios en el metabolismo de algunos neurotransmisores, como triptófano y serotonina en algunas áreas cerebrales.

La EMT puede aplicarse mediante pulsos únicos, pares de estímulos separados por intervalos de tiempo variables sobre la misma región o diferentes regiones, o mediante trenes de estímulos a frecuencias variables. Los estímulos únicos pueden despolarizar neuronas y producir efectos medibles; los trenes de estímulos pueden modificar la excitabilidad cortical de la zona estimulada y de áreas remotas relacionadas, a través de conexiones anatómicas funcionales [27]. Al aplicarse como pulsos simples, se estimula cada tres o más segundos sobre una determinada región; un pulso simple de EMT puede despolarizar una población de neuronas y de este modo evocar un determinado fenómeno o una percepción. Cuando se aplica un pulso simple de EMT de

intensidad suficiente sobre la corteza motora puede inducir un movimiento en una extremidad contralateral, y cuando se aplica sobre la corteza visual puede inducir la percepción de un destello de luz (fosfeno) [28].

La EMT repetitiva (EMTr) corresponde a un tren de pulsos de EMT de la misma intensidad aplicado en una determinada área del cerebro y a una frecuencia que puede variar desde uno a veinte estímulos por segundo. Cuanto mayor es la frecuencia del pulso y la intensidad de la estimulación, mayor es la disrupción de la función cortical durante el tren de estímulo. Sin embargo, después de este efecto inmediato, un tren de estimulación repetitiva puede también inducir un cambio en la excitabilidad cortical. Frecuencias bajas, del orden de 1 Hz, puede suprimir la excitabilidad del córtex motor, mientras que trenes de frecuencias del rango de 20 Hz pueden producir un incremento temporal de la excitabilidad cortical [29]. La EMTr puede aplicarse a frecuencias relativamente bajas, aplicando un estímulo cada segundo o menos. Este tipo de estimulación se denomina EMTr lenta (o de baja frecuencia). La EMTr rápida o de alta frecuencia corresponde a la aplicación estímulos por encima de 20 veces por segundo. La EMTr lenta y rápida ejerce un efector modulador distinto sobre la excitabilidad cortical. Además, la diferenciación de EMTr rápida y lenta es importante desde el punto de vista de la seguridad de la técnica.

Los dos tipos de bobinas utilizados con mayor frecuencia son la bobina circular y la bobina en forma de 8 (Figura 6). El campo eléctrico generado y, por lo tanto, la focalidad y penetración del estímulo, depende de la geometría de la bobina. La estimulación con una bobina en forma de 8 puede aumentar la focalidad de estimulación, esta configuración consiste en dos bobinas circulares que transportan corrientes en direcciones opuestas, y allí donde las bobinas se unen se produce una suma del campo eléctrico. Ahora bien, la región de estimulación efectiva depende no sólo de la geometría de la bobina, sino también del tipo, la orientación y el nivel [28].

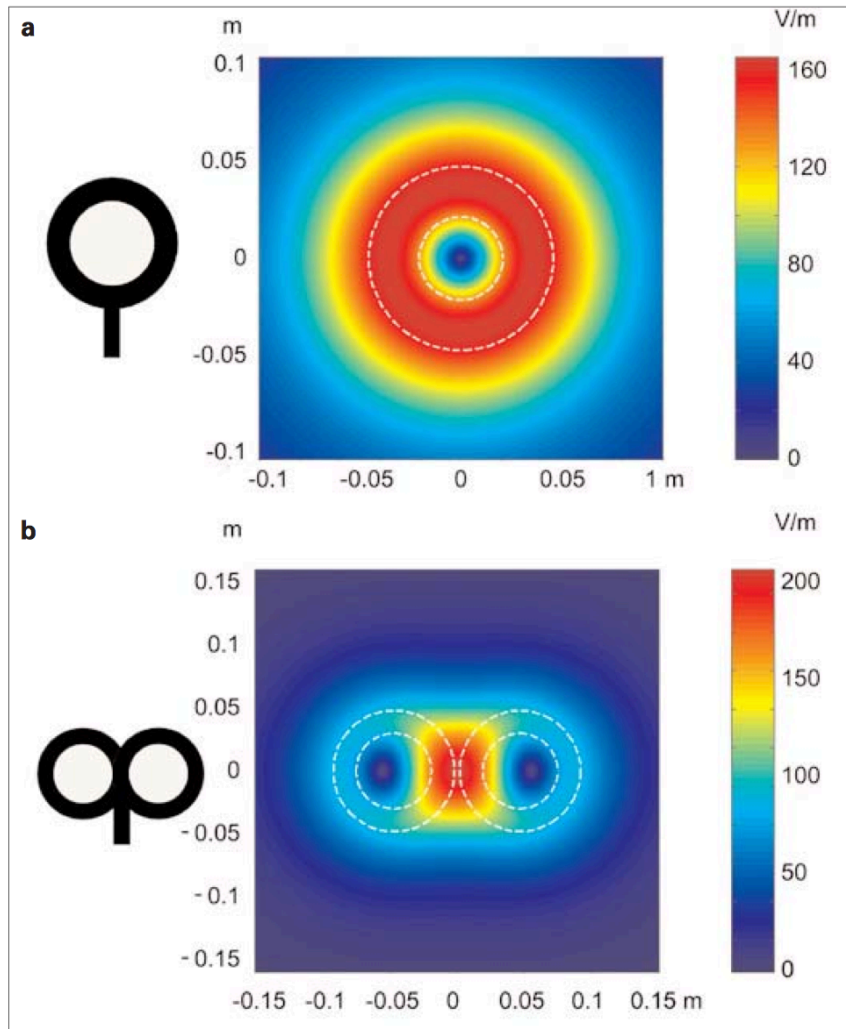


Figura 6. Campos eléctricos inducidos por una bobina de estimulación.

a) Bobina de estimulación circular b) Bobina en forma de 8.

La morfología externa de cada espira 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 ( $dL/dt = 108 \text{ As-1}$ ). Imagen tomada de Pascual-Leone y Tormos Muñoz, 2008.

## 2.4 Resonancia Magnética

La RM es una herramienta de diagnóstico por imagen en la cual se expone al tejido examinado a un campo magnético intenso y se procede a examinar las ondas de radiofrecuencia que emiten sus protones. La RM posibilita la investigación de la naturaleza molecular de la sustancia en todos sus estados de agregación: líquido, sólido y gaseoso, aportando información de

la estructura de las moléculas y la cinética de importantes procesos decisivos en la ciencia, la tecnología, la medicina y la industria moderna; además de ser un excelente método para la evaluación de estructuras cerebrales. La RM utiliza el magnetismo nuclear como sonda para las investigaciones[30].

A diferencia de los equipos de rayos convencionales y la medicina nuclear, la RM no emite radiaciones. Los estudios con imágenes por RM usan un gran imán (Figura 7) y ondas de radio para observar órganos y estructuras que se encuentran dentro del cuerpo. Existen 3 tipos básicos de secuencias de pulso: a) SE (Spin-Echo) que puede potenciar las imágenes en T1, T2 y Densidad protónica, que es la secuencia más utilizada por sus posibilidades diagnósticas, b) IR (Inversion-Recovery), potenciando la imagen en T1, y c) GE (Gradient-Echo), potenciando las imágenes en T1, T2 y T2\*. La imagen potenciada en T2\* tiene su máxima representatividad en el estudio del sistema músculo esquelético [31].

#### **2.4.1 Perfusión por Resonancia Magnética**

El estudio de perfusión por resonancia magnética (PRM) permite determinar la cantidad de sangre que irriga un territorio cerebral. Existen tres técnicas principales para realizar estudios de PRM: imagen de susceptibilidad magnética ponderada en T2\*, perfusión dinámica ponderada en T1 y técnicas Arterial Spin Labelling (ASL). Todos estos métodos se basan en los cambios de señal que acompañan el paso de trazador por el sistema cerebrovascular, que puede ser endógeno (agua) o exógeno (quelatos de gadolinio) [32].

La técnica ASL no utiliza contraste exógeno sino que satura el agua de la sangre mediante pulsos de radiofrecuencia (RF) justo antes de llegar a la zona de interés. La técnica Dynamic Susceptibility Contrast (DSC) se basa en el control dinámico del primer paso de un bolo de contraste exógeno; es la técnica más utilizada y utiliza un contraste exógeno NO difundible (p.e. Gadolinio). El contraste permanece intravascular y modifica la susceptibilidad magnética del tejido circundante, disminuyendo su señal en T2 y T2\* en mayor medida que el aumento de señal T1. Por ello se utilizan secuencias EPI GE potenciadas en T2\*. Proporciona una valoración



cualitativa del volumen de sangre en un tejido. Se compara por tanto con el valor en una zona de sustancia blanca sana.



*Figura 7. Escáner de RM*

En la Figura 8 observamos la curva característica de la perfusión, representa la llegada del bolo de contraste, la saturación y la recuperación de la señal [33]. Las mediciones obtenidas son las siguientes:

- Índice de perfusión [ml/100g/s] rCBF: Flujo sanguíneo cerebral por región (NI /MTT)
- Integral negativa [ml/100g] (NI) rCBV: volumen sanguíneo cerebral regional
- Mean Transit Time [s] (MTT): Tiempo de transito medio del bolo
- T0 - Time of Arrival [s] (T0): Aplicación del medio de contraste
- Time to Peak (TTP): tiempo entre T0 y el tiempo de la intensidad pico (T1).

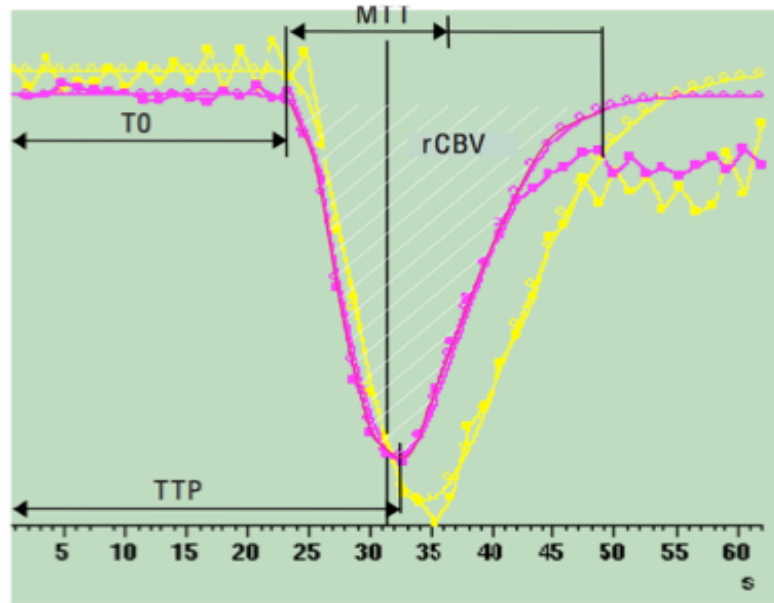


Figura 8. Curva característica de la Perfusión por RM.

La gráfica corresponde a la caída de señal del vaso en T2\* por la llegada del bolo de contraste y la recuperación posterior con las definiciones de VSCr (NI), T0, TTP, MTT. Imagen tomada del Manual de PHILIPS® vol. 2.

## 2.4.2 Angiografía por Resonancia Magnética

La angiografía por resonancia magnética (ARM) es un examen de imágenes por RM de los vasos sanguíneos. Con una ARM se puede detectar, diagnosticar y ayudar al tratamiento de trastornos cardiacos, accidente cerebrovascular y enfermedades de los vasos sanguíneos; permite tomar imágenes detalladas de los vasos sanguíneos sin usar ningún material de contraste, aunque normalmente se administra un contraste para hacer que las imágenes de RM sean aún más nítidas [34].

La ARM utiliza las distorsiones que produce la sangre en movimiento para generar señales que serán obtenidas por técnicas de RM. Existen dos técnicas para realizar una ARM: angiografía por tiempo de vuelo (time of flight-TOF) o por contraste de fase (phase contrast- PC). Aunque esta última permite evaluar la dirección y velocidad del flujo sanguíneo, la ARM-TOF tiene mejor resolución espacial. La técnica consiste en emplear una secuencia de pulsos GE

ultrarrápida, tridimensional (3D) con elevada resolución y adquirida en apnea. El procesamiento posterior permite la visualización angiográfica o volumétrica en el plano deseado [35] .

La ARM es un método eficaz y no invasivo para la evaluación de la bifurcación carotídea. En la disección arterial, la ARM permite visualizar estenosis significativas, pero puede no detectar disecciones sutiles. El uso conjunto de ARM con secuencias normales de RM con cortes delgados transversales a través de la zona afectada es de gran utilidad, ya que es posible detectar sangre subaguda, típicamente en forma semilunar, en la pared arterial. La circulación arterial intracraneal, particularmente los grandes vasos del polígono de Willis y sus ramas de segundo orden, pueden ser estudiados eficazmente por ARM, con un alto índice de sensibilidad y especificidad. Los vasos normales y ocluidos son correctamente detectados en un 97 a 100% de los casos [36].

### 2.4.3 Q-Flow

El análisis espacial en imágenes de RM convencionales está basado en la aplicación de gradientes de campo magnético para distinguir entre las señales de diferentes partes de una muestra sobre la base de su frecuencia, su fase o ambas. El movimiento o flujo de los espines nucleares durante la aplicación de estos gradientes de codificación espacial pueden dar lugar a artefactos de imagen. A la inversa, una comprensión detallada de los orígenes de los artefactos de movimiento y la forma de suprimirlos provee ideas sobre los métodos para la sensibilización de flujo y medición de flujo en la RM [37].

Quantitative Flow (Q-Flow ®) es una técnica de medición de flujo; se refiere a la cuantificación de los efectos del flujo que afectan la fase del spin, por lo cual mide la diferencia de los “tejidos” en movimiento con respecto los estacionarios. Es una técnica que sirve para calcular un mapa de velocidades o flujos medidos en el tiempo y en el mismo plano. Una vez que se adquieren las secuencias de flujo se hace una substracción de fase; esto crea un diagrama de intensidad-tiempo para que se calcule el flujo en mililitros por segundo (ml/s); se utiliza una

secuencia GE que permite tiempos cortos de repetición que se sincronizan con el electrocardiograma (ECG).

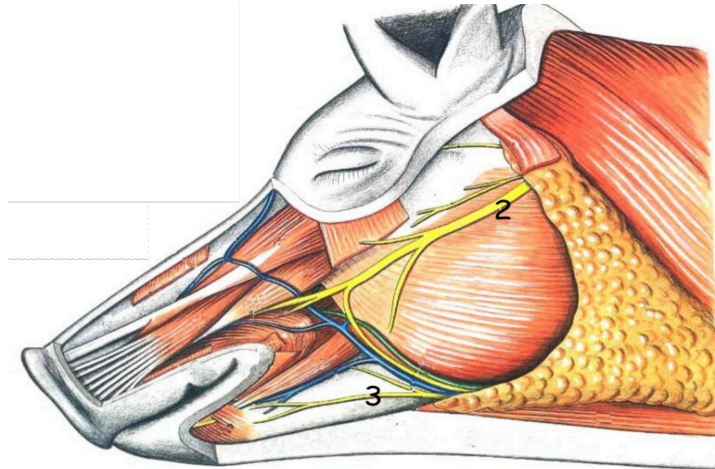
Recientemente se ha publicado una variedad de métodos de RM para la visualización y la cuantificación de flujo en los vasos sanguíneos humanos. Para medir el flujo cuantitativamente, se utiliza el método de modulación de fase por RM. Los perfiles de velocidad instantánea y la velocidad de flujo integrado se pueden determinar en todo el ciclo cardiaco hasta en 45 intervalos de tiempo consecutivos. Las distribuciones de velocidad instantánea se pueden mostrar como perfiles 2D sobre el lumen del vaso sanguíneo [38].

## **2.5 Justificación del modelo experimental con cerdos**

La cirugía experimental en animales es una herramienta que permite aplicar los conocimientos obtenidos de ella en el ser humano, logrando con esto grandes avances en el campo de la medicina humana. Los modelos animales de experimentación se han utilizado en el área de la docencia, industria e investigación. Entre los animales que se han utilizado para la investigación se encuentran ratones, ratas, cobayos, conejos, hámsteres, perros, gatos, primates no humanos, cerdos, cabras, borregos, pollos y anfibios.

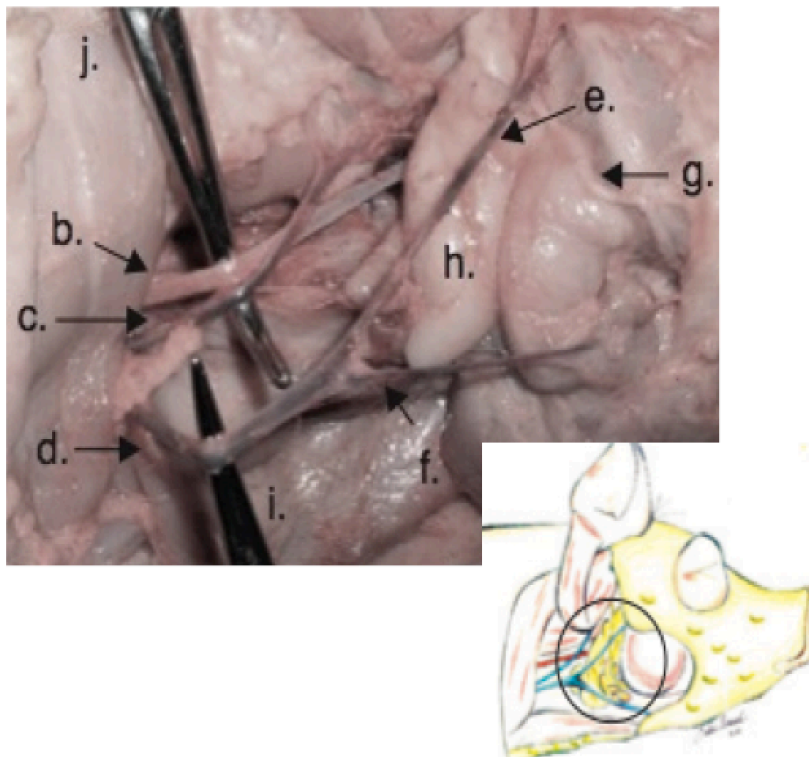
El cerdo se considera un animal de máximo interés en el terreno de la experimentación e investigación biomédica. La especie porcina se emplea a menudo para el desarrollo de una gran multitud de modelos experimentales y se utiliza también en la docencia práctica de especialistas en cirugía convencional y de mínima invasión (laparoscopia, videocirugía ó endocirugía) así como anestesiología.

El cerdo tiene muchas similitudes anatómicas y fisiológicas con el ser humano; hemos definido que para la presente investigación se requiere el conocimiento de la ubicación de estructuras principales correspondiente al nervio facial (figura 9) y a la irrigación sanguínea cerebral como se muestra en la figura 10, la cual es una disección para la identificación de estructuras anatómicas [39].



*Figura 9. Nervio facial en cerdos*

*1: Nervio facial (se encuentra profundo en la glándula parótida); 2: Rama bucal dorsal del nervio facial, 3: Rama bucal ventral del nervio facial. Imagen tomada de Popesko (1981)*



*Figura 10. Hemicara derecha de cerdo. Estructura anatómica.*

*b) arteria carótida común, c) vena yugular interna, d) vena yugular externa, e) vena maxilar interna, f) vena maxilar externa (conocida también como vena linguofacial), g) rama bucal dorsal del nervio facial, h) glándula submandibular, i) músculo esternohioideo, j) músculo braquiocefálico. Imagen tomada de Navas-Aparicio 2013.*

## 2.6 Estudios pre-clínicos previos

El aumento del FSC causado por la estimulación del nervio facial en modelos animales es un efecto ampliamente estudiado y se han realizado estudios en distintos laboratorios y con distintas especies animales sobre sus mediciones [17-22]. Una distinción importante del estudio aquí presentado es que la estimulación no es invasiva, mientras que en los estudios antes mencionados todos los procedimientos quirúrgicos requieren el acceso para la aplicación directa de un electrodo en el nervio facial.

Nuestro grupo de investigación ha demostrado que la estimulación magnética del nervio facial en el ganglio geniculado provoca un aumento significativo en el FSC en diversos modelos animales [3]. En un modelo en perros se demostró que esto puede ser un tratamiento eficaz y seguro para el ACV isquémico [4]. Estos estudios serán revisados a continuación.

### 2.6.1 Modelo en Ovejas

Experimentos realizados en The Sutter Research Institute en Sacramento, California, demostraron el incremento del FSC al estimular magnéticamente el nervio facial [3]. El estudio fue hecho en ovejas (n=6) y confirmado en perros (n=5), en los que se llevó a cabo la estimulación magnética sobre el oído, de tal manera que se indujeron movimientos distales inervados por el nervio facial ipsilateral a la estimulación, músculo orbicular de la boca (*orbicularis oris*), músculo orbicular del ojo (*orbicularis oculi*) y músculo platisma (cutáneo del cuello). La medición se llevó a cabo por medio de flujometría por láser Doppler (unidades relativas de flujo sanguíneo), colocando la sonda sobre la corteza frontal mediante craneotomía y canulando la arteria carótida común, para realizar una angiografía digital. En este trabajo se concluye que la frecuencia óptima de estimulación es a 10 Hz y un parámetro importante a evaluar es la potencia de estimulación; el tiempo utilizado para este estudio fue de 5 min de estimulación. Los resultados se observan en la Figura 11.

Este estudio sugiere el uso de neuronavegación, ya que sólo cuando la bobina fue centrada sobre el canal auricular, con el eje central en paralelo con la línea de la mandíbula, el incremento en el flujo fue demostrable. La posición óptima se obtuvo al colocar el campo magnético perpendicular al eje longitudinal del nervio; cuando esto se logró con neuronavegación, se observaron aumentos de la FSC en cada prueba de estimulación. Se confirmó, de manera informal en estos experimentos, con flujometría por láser Doppler que tres de los cuatro ejemplos de aumentos prolongados en FSC se obtuvieron después de una cuidadosa orientación de la bobina de estimulación, de la manera descrita.

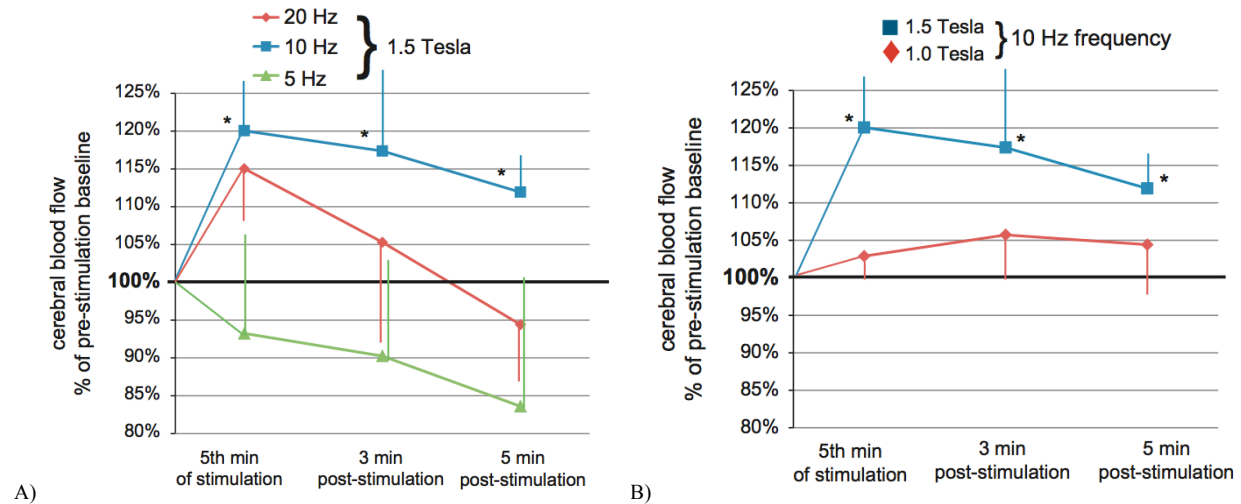


Figura 11. Cambios en el FSC debido a la variación de la frecuencia y la potencia de estimulación.

A) Cambio en el FSC causado por la estimulación del nervio facial en diversas frecuencias de estimulación. Periodo de estimulación: 5 minutos con 1,5 T potencia de estimulación. El Teslaje se estima en la superficie de la bobina. B) Cambio en el FSC causado por la estimulación del nervio facial en diversas potencias de estimulación. Notese que el movimiento de la musculatura facial fue inducida de forma fiable a 1,0 T y poderes aún más bajos. Periodo de estimulación: 5 minutos a 10 Hz de frecuencia. En ambas imágenes: \*Promedio±EEM.  $P < 0.017$  vs. Línea de base, prueba T pareada corregida por el método de Bonferroni para comparaciones múltiples



## 2.6.2 Modelo en perros con ACV isquémico

Experimentos realizados en el Centro Nacional de Investigación en Instrumentación e Imagenología Médica (CI<sup>3</sup>M) demostraron la reducción de la zona de penumbra, en caso de ACV isquémico, por el incremento del FSC al estimular magnéticamente el nervio facial [4]. Se utilizó un modelo de ACV isquémico en perros (n=12) que implicó la inyección de un coágulo de sangre autóloga en la arteria carótida interna que embolizó a la arteria cerebral media comparado con un grupo control (n=6). Treinta minutos después de la oclusión de la arteria cerebral media, la región del ganglio geniculado del nervio facial fue estimulada por 5 minutos. La perfusión cerebral fue medida usando PRM con medio de contraste; el ATP y los niveles totales de fosfato se midieron utilizando espectroscopia (<sup>31</sup>P). La estimulación del nervio facial causó una mejora significativa en la perfusión en el hemisferio afectado por ACV isquémico y una reducción en volumen del núcleo isquémico en comparación con control de estimulación simulada. La relación de ATP / fosfato mostró una gran disminución post-infarto en el grupo control frente a un nivel normal en el grupo de estimulación.

## 2.6.3 Modelo en cerdos con ACV hemorrágico

Por otra parte, un modelo en cerdos con hemorragia cerebral, por la ruptura de la arteria cerebral media, sirvió como un examen inicial de seguridad en la estimulación del nervio facial en caso de ACV. La misma estimulación que en el modelo con perros se administró a los cerdos con hemorragia cerebral y no causó ampliación del hematoma. Para su confirmación se utilizaron técnicas de neuronavegación para la inducción y estudios de imagenología por RM [artículo en revisión].

## 3. Objetivos

---

### 3.1 Objetivo general

Determinar los parámetros óptimos de potencia, número de sesiones y tiempo de EM sobre el ganglio geniculado del nervio facial de cerdos sanos para modificar el FSC.

### 3.2 Objetivos específicos

- Determinar el FSC por efecto combinado de la variación en el tiempo y la potencia de EM mediante un diseño factorial aleatorizado a través del análisis de perfusión por RM.
- Comparar el cambio en el FSC al aplicar una sola sesión de EM y al aplicar dos sesiones de EM a un mismo cerdo a través del análisis de perfusión por RM.
- Evaluar el efecto en el cambio del FSC al aplicar una sola estimulación mediante técnicas alternativas: Q-Flow y angiografía por RM.

## 4. Metodología

---

### 4.1 Modelo experimental

Anteriores estudios hicieron uso de la EM para comprobar el efecto de incremento del FSC al estimular el nervio facial [6]. Para la selección de los parámetros de EM en este estudio se utilizaron los parámetros previamente reportados en experimentos realizados con ovejas [3], en términos de potencia se había evaluado para una potencia de 1T (50% de la potencia total proporcionada por el equipo) y 1.5T (75%), en 50% no se observó un efecto significativo por lo cual nuestro parámetro de potencia menor fue definido en 65%, un intermedio en 80% y un máximo en 95%; en cuanto al tiempo no se habían evaluado otros parámetros, por lo cual se eligieron tiempos de 2, 3.5 y 5 minutos de estimulación partiendo de que el tiempo aplicado anteriormente era 5 minutos, dado que la frecuencia óptima se había definido satisfactoriamente en pulsos bifásicos de 10 Hz fue ésta la utilizada.

## 4.1.1 Ensayo con dos sesiones de estimulación

### 4.1.1.1 Diseño experimental

Se utilizó un diseño de experimentos factorial completo, de dos factores a tres niveles; el diseño utilizado permitió observar todas las interacciones posibles. Obtuvimos nueve combinaciones posibles, que corresponden al parámetro potencia y al parámetro tiempo en sus tres niveles diferentes, y con fines estadísticos se realizan tres repeticiones, para un total de 27 ensayos, los cuales serán realizados aleatoriamente (aleatorización simple) con la finalidad de evitar sesgos, tal como se muestra en la Tabla 1. Se realizó una segunda estimulación, con las mismas características que la primera, al mismo sujeto aproximadamente 100 min después de la primera estimulación, esperando observar un efecto más prolongado. Se llevaron a cabo dos ensayos por semana, y se utilizó al mismo sujeto en tres ocasiones dejando una semana de recuperación entre cada ensayo.

Tabla 1. Diseño factorial completo.

Potencia \ Tiempo	Tiempo		
	2 min	3.5 min	5 min
65%	n=3	n=3	n=3
80%	n=3	n=3	n=3
95%	n=3	n=3	n=3

Los sujetos de experimentación empleados para esta investigación fueron de 10 cerdos de raza Yorkshire, utilizando 3 veces cada uno dejando una semana de recuperación entre cada ensayo; 9 cerdos fueron utilizados para realizar el ensayo principal (con 2 sesiones de estimulación) que al reutilizarlos 3 veces se cumple con los 27 ensayos necesarios para cumplir el

diseño experimental. Un cerdo más fue utilizado en 3 ocasiones para realizar el ensayo comparativo (con una sola sesión de estimulación) descrito en el apartado 4.1.2. El intervalo de peso aceptado fue de 15 a 35 Kg. El procedimiento experimental fue aprobado por el comité de ética de la Universidad Autónoma Metropolitana, CBI.

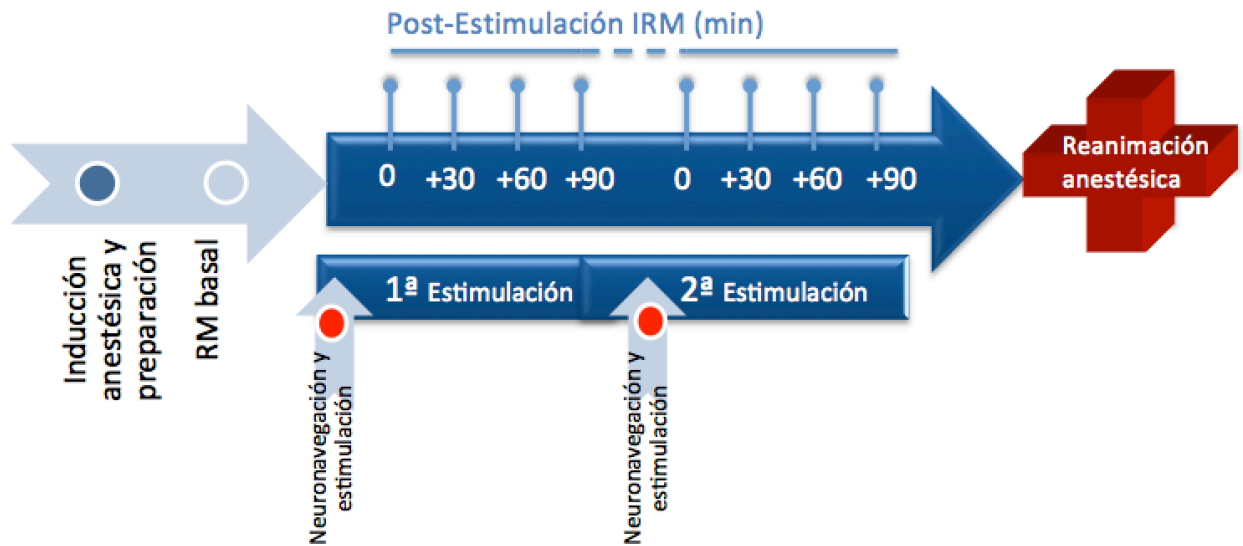


Figura 12. Ensayo con dos sesiones de estimulación.

#### 4.1.1.2 Procedimiento

Se sometió a los cerdos en condiciones normales a un proceso como se muestra en la figura 12. Describimos brevemente los pasos realizados para explicarlos a detalle en capítulos posteriores: 1) Se realiza el proceso de inducción y mantenimiento anestésico. 2) Se toman imágenes de referencia (IRM ponderadas en T1 y T2) y las de línea de base (perfusión por RM). 3) Se realiza la neuronavegación con las imágenes de referencia y se realiza la estimulación. 4) Se evalúa durante los siguientes 90 minutos, tomando imágenes de perfusión por RM cada 30 min. 5) Aproximadamente 100 minutos después de la primera estimulación se aplica una segunda estimulación al mismo sujeto asistida también con neuronavegación. 6) Se evalúa durante otros 90 minutos, tomando imágenes de perfusión por RM cada 30 min de igual manera que en la

primera estimulación. 7) Al final, se lleva a cabo la reanimación anestésica del sujeto (La línea del tiempo del protocolo utilizado se muestra en el ANEXO1).

#### 4.1.2 Ensayo con una sola sesión de estimulación

Con el objetivo de comparar el efecto de aplicar una segunda estimulación, se realizó un ensayo con 3 sujetos, con los mismos criterios de los ensayos con dos sesiones de EM, en los cuales se utilizó un parámetro de estimulación de 95% de potencia y 2 minutos de tiempo de estimulación con la única diferencia de tener una sola estimulación con un seguimiento de hasta 240 minutos después de ser estimulados, como se observa en la Figura 13 (El protocolo de estimulación se muestra en el ANEXO 2).

En este caso se decidió hacer la evaluación del cambio en el FSC con dos técnicas adicionales al análisis de perfusión por RM que nos servirá para comparar con el ensayo principal. Una de éstas nos permite observar el aumento o la disminución de los vasos sanguíneos, ésta es una Angiografía por RM; el análisis de flujo cuantitativo (Q-Flow®) es una segunda técnica que sirve de respaldo y ambas permiten observar la lateralidad o bilateralidad del efecto.



Figura 13. Ensayo con una sola sesión de estimulación

Otro dato tomado de este ensayo fue la realización de una evaluación neurológica rápida, a través de un sistema de puntuación neurológica. El sistema se basa en la forma de prueba común para las disfunciones neurológicas en animales grandes (ANEXO 3) y se obtuvo una puntuación de cero, descartando de esta manera daño neurológico por el efecto de estimulación magnética.

## 4.2 Preparación y procedimiento anestésico

La anestesia general, la preparación de los animales y el control se llevó a cabo como se describe a continuación:

- La inducción se realizó con una dosis intramuscular de azaperona (2mg/kg) + ketamina (15mg/kg) y el mantenimiento anestésico con gas isoflurano (1-2%), administrado con 100% de oxígeno (2-3 L/min). Se intubó al sujeto después de la inducción para mantener la ventilación mecánica y para realizar el mantenimiento anestésico [40]. La vena auricular lateral o la auricular medial de la oreja fue cateterizada para el suministro del medio de contraste (gadolinio al 0.1 mol/kg seguido de 15cc de solución salina) [41].
- Se agregó un sistema de referencia a base de marcadores (fiduciaros) adheridos a la piel y distribuidos de manera simétrica alrededor de la cabeza del sujeto (Figura 14A). Se utilizaron perlas de benzonatato (100 mg) como marcadores, ya que debido a su composición resaltan en las imágenes ponderadas en T1 [42].

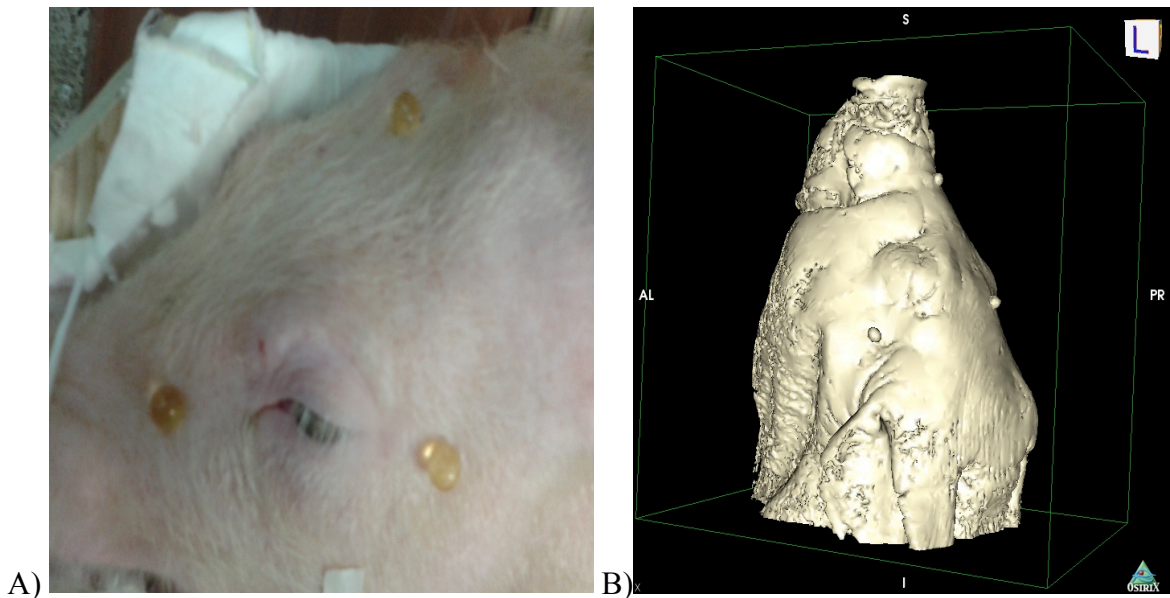
## 4.3 Estimulación

Para la estimulación se utilizó una bobina en forma de ocho (6.5 cm cooled figure-8 TMS coil, Magventures, Mag Pro, Cool B65). La bobina de estimulación fue colocada sobre la oreja izquierda. La posición de la bobina fue asegurada por medio de un brazo mecánico como vemos



en la Figura 15. Las características de la bobina y del estimulador indican que el 100% de la potencia de estimulación suministrada por el equipo corresponde a un campo magnético de 2T en la superficie de la bobina.

Para obtener las coordenadas de la localización el ganglio geniculado, marcada como posterior y superior a los canales semicirculares, lateral y superior a la cóclea y medial al canal auricular, se utilizaron imágenes de RM ponderadas en T2, observado sobre el software MRIcron (Figura 16A). La posición del estimulador fue asistida por medio de un sistema de neuronavegación (Brain Science Tools, Netherlands). Se calibró el equipo con marcadores de referencia colocados sobre el sujeto (Figura 14B), para la posición de la antena se usaron imágenes ponderadas en T1 (Figura 16B) [42].



*Figura 14. Marcadores de referencia para la neuronavegación.*

*A) Colocación de los marcadores de referencia para la neuronavegación sobre el sujeto B) Reconstrucción 3D de las secuencias en T1 con el software Osirix para observar la ubicación de los marcadores de referencia que serán utilizados en la calibración de la neuronavegación.*

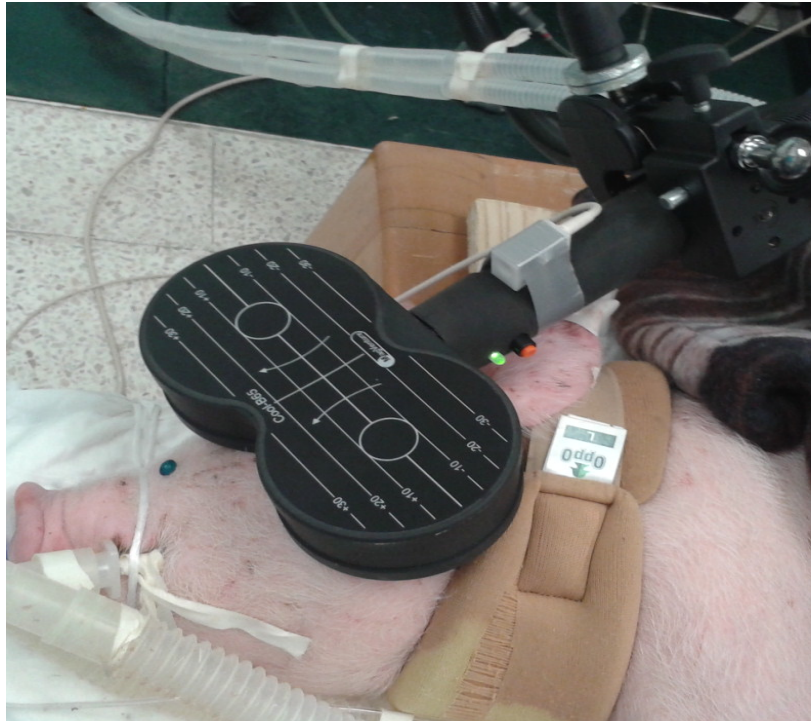


Figura 15. Posición de la bobina de EMT.

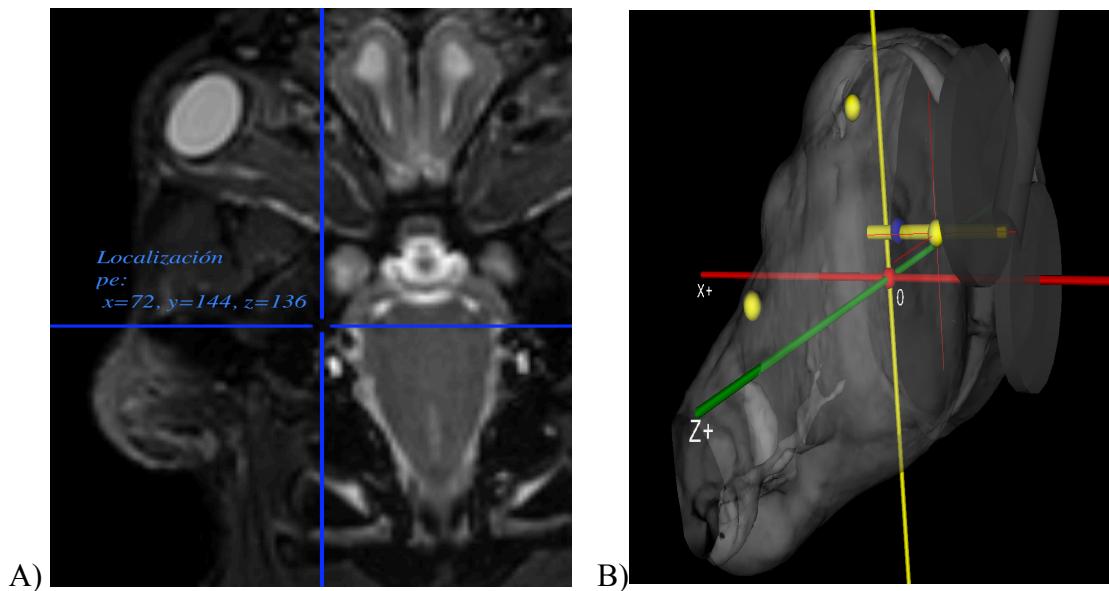


Figura 16 Neuronavegacion para ubicación del ganglio geniculado

A) Localización del sitio de estimulación en imágenes de RM ponderadas en T2. La región del ganglio geniculado fue marcada como posterior y superior a los canales semicirculares, lateral y superior a la coclea y medial al canal auricular (Software MRIcron). B) Usando el software de neuronavegación, posicionamos la antena de estimulación utilizando los marcadores de referencia (marcados en color amarillo) y la ubicación del ganglio (marcado en azul) sobre imágenes de RM ponderadas en T1.

## 4.4 Evaluación

Los resultados fueron observados a través de imágenes por RM usando un escáner Philips® Achieva de 3T y una antena para cabeza de ocho canales SENSE®. Se obtuvieron imágenes ponderadas en T1 y T2 de la cabeza completa del cerdo para utilizarlas como referencia en la ubicación del sitio de estimulación y la posición de la bobina, conservando la misma geometría.

### 4.4.1 Evaluación de las imágenes de Perfusión

Se utilizaron las secuencias de perfusión PRESTO de Philips® antes y después de cada estimulación. Con la secuencia de perfusión utilizada, obtuvimos 25 mapas calculados de perfusión por cada imagen. En la Figura 17 observamos un mapa central directamente del software de Philips, en el cual vemos el efecto de la estimulación en toda la cabeza del cerdo.

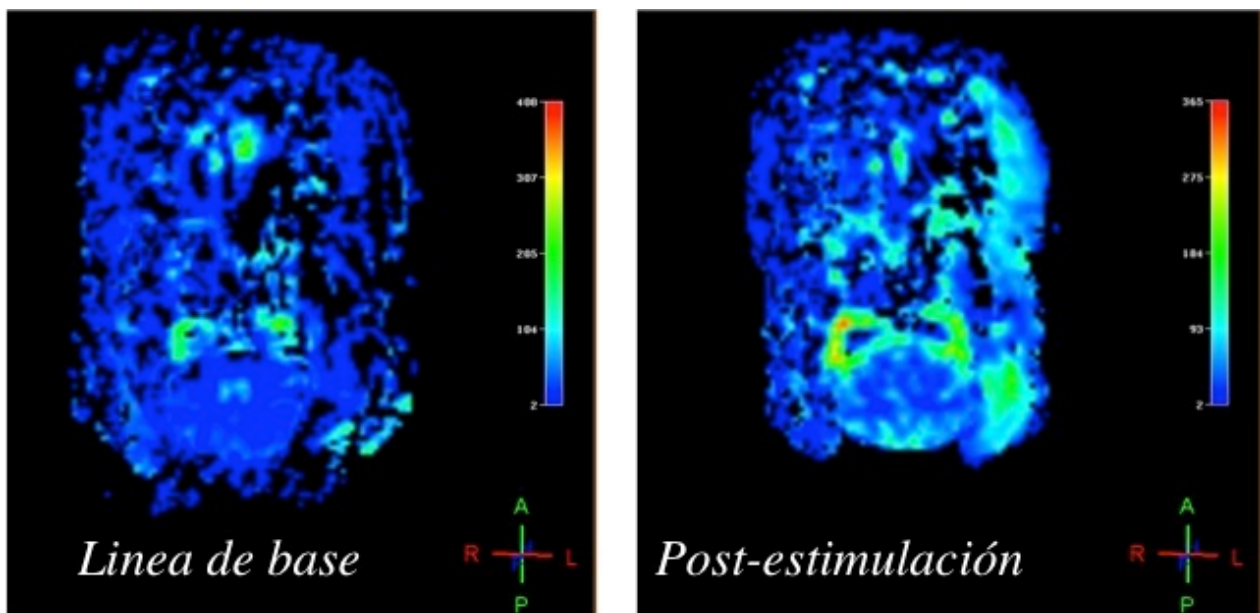


Figura 17. Efecto de la EM observado en imágenes de perfusión por RM con el software de Philips.

Para el análisis, utilizamos 5 mapas centrales, correspondientes a las rebanadas 11 a la 15. Segmentamos el tejido cerebral, usando el software Osirix, con una región de interés (ROI, por sus siglas en inglés) circular de un área aproximada de 12 cm<sup>2</sup> para cada rebanada; exportamos los valores promedio y los normalizamos contra la línea de base respectiva por sujeto, para cada tiempo de monitoreo (Figura 18). Los datos que obtuvimos corresponden a un índice de perfusión normalizado (IPn).

Esta evaluación se llevó a cabo para los 27 sujetos del diseño factorial realizando un Análisis de Varianza de medidas repetidas. También se realizó para los 3 sujetos del grupo con una sola estimulación y se comparó con los 3 sujetos que recibieron la EM con dos sesiones de estimulación, esto con los mismos parámetros (95% y 2 minutos).

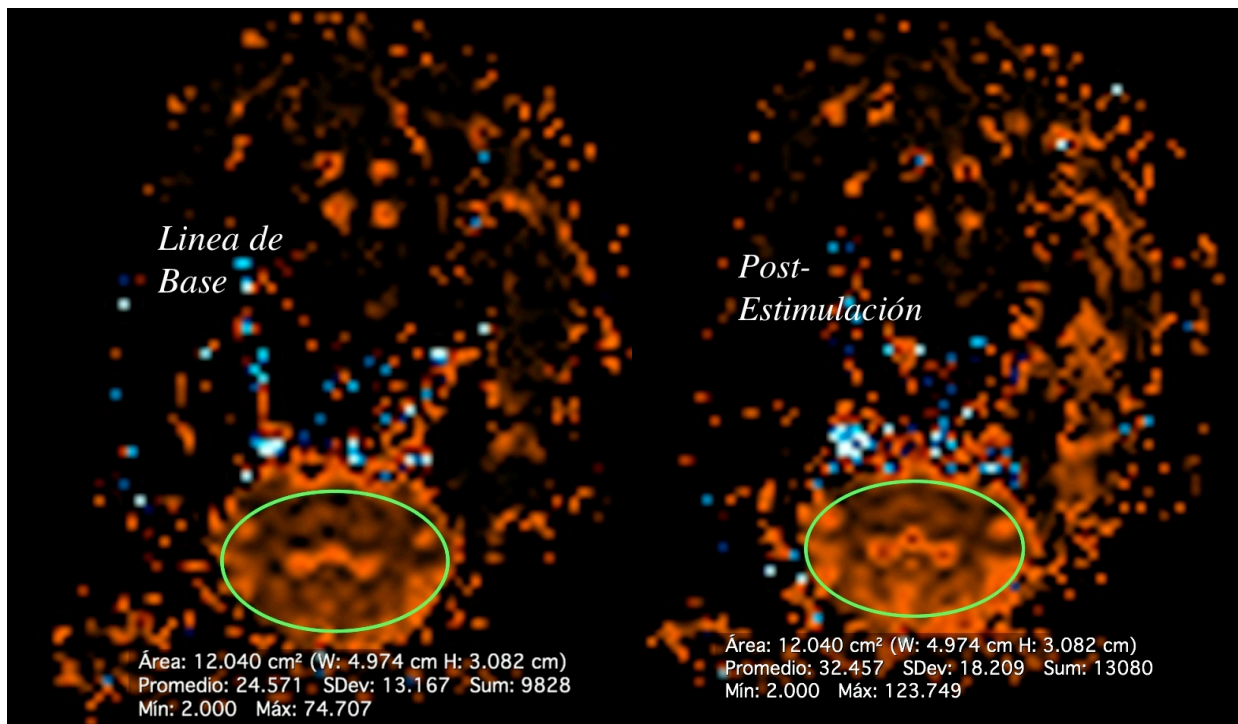


Figura 18. Medición del índice de perfusión por RM observado don el software de Osirix.

Corte transversal de la cabeza del cerdo antes y después de la estimulación con una ROI situada sobre el cerebro.

#### 4.4.2 Evaluación de las Angiografías

Para el ensayo de comparación se decidió realizar, además de la evaluación de imágenes de PRM, una evaluación de las imágenes obtenidas por ARM con la finalidad de observar el efecto de vasodilatación directamente sobre las arterias carótidas internas; la ubicación la podemos observar en la figura 19 [39]. La figura 20 corresponde a la reconstrucción 3D a partir 140 cortes transversales que localizan a las arterias carótidas comunes y su primer bifurcación (en arterias carótidas internas y externas). Podemos observar que al aplicar una estimulación magnética se produce un ensanchamiento de los vasos sanguíneos principales .

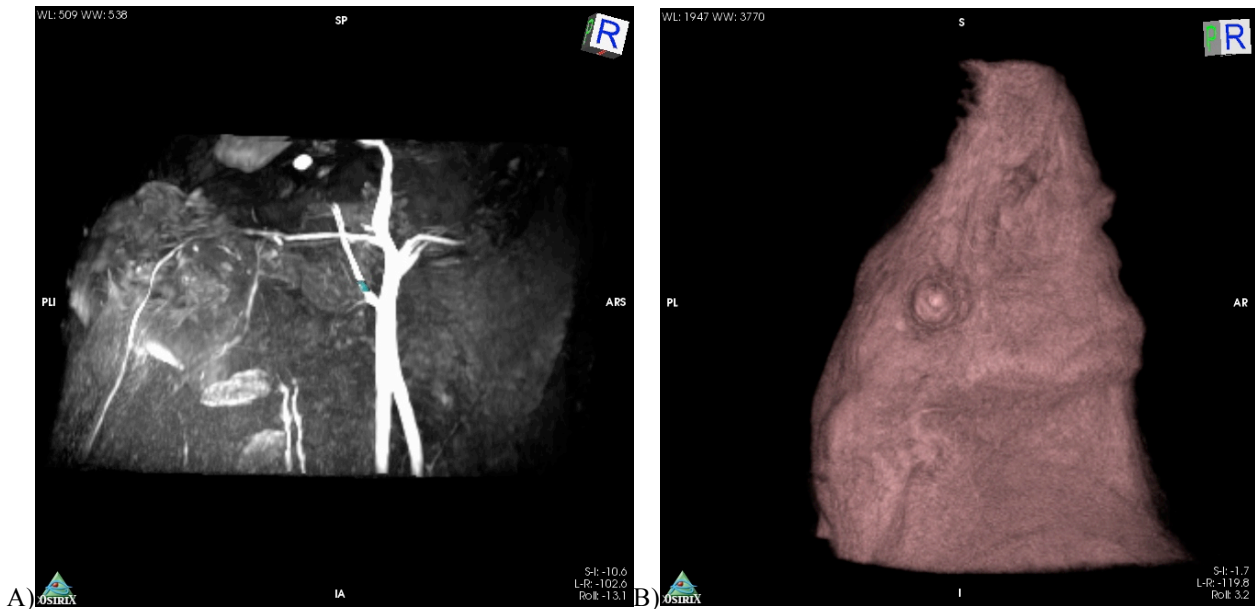


Figura 19. Anatomía de arteria carótida interna en cerdos.

A) Angiografía 3D en vista sagital derecha, B) Reconstrucción 3D en vista sagital derecha como referencia de la posición de la cabeza del sujeto.



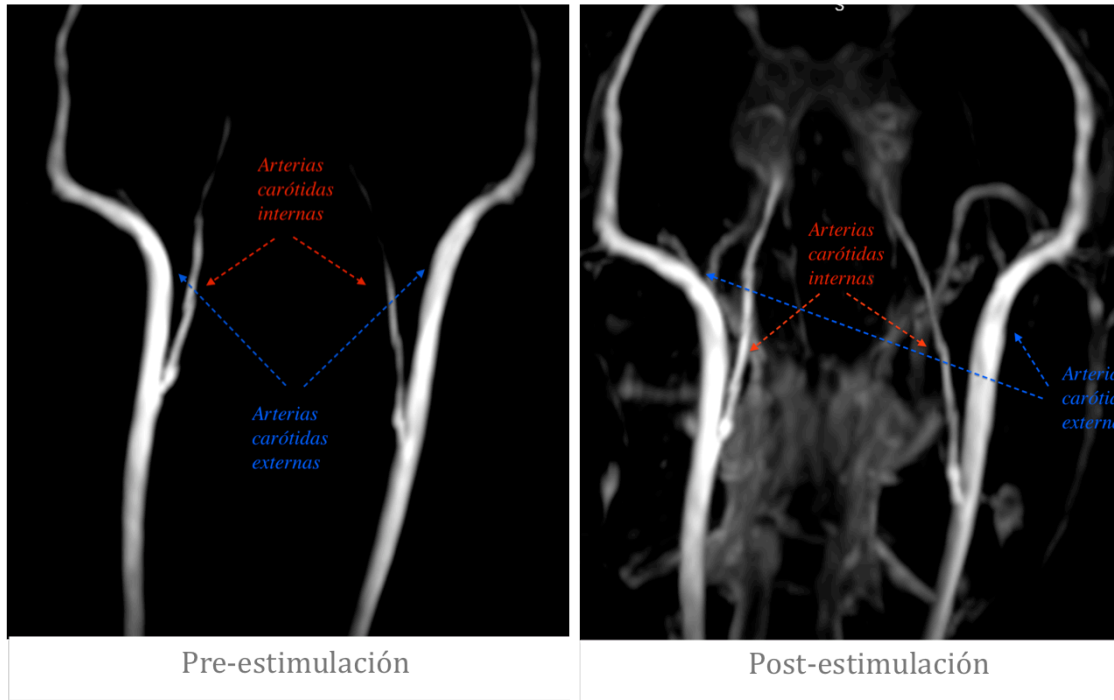


Figura 20. Angiografía por RM pre y post estimulación. Vasodilatación de arterias principales.

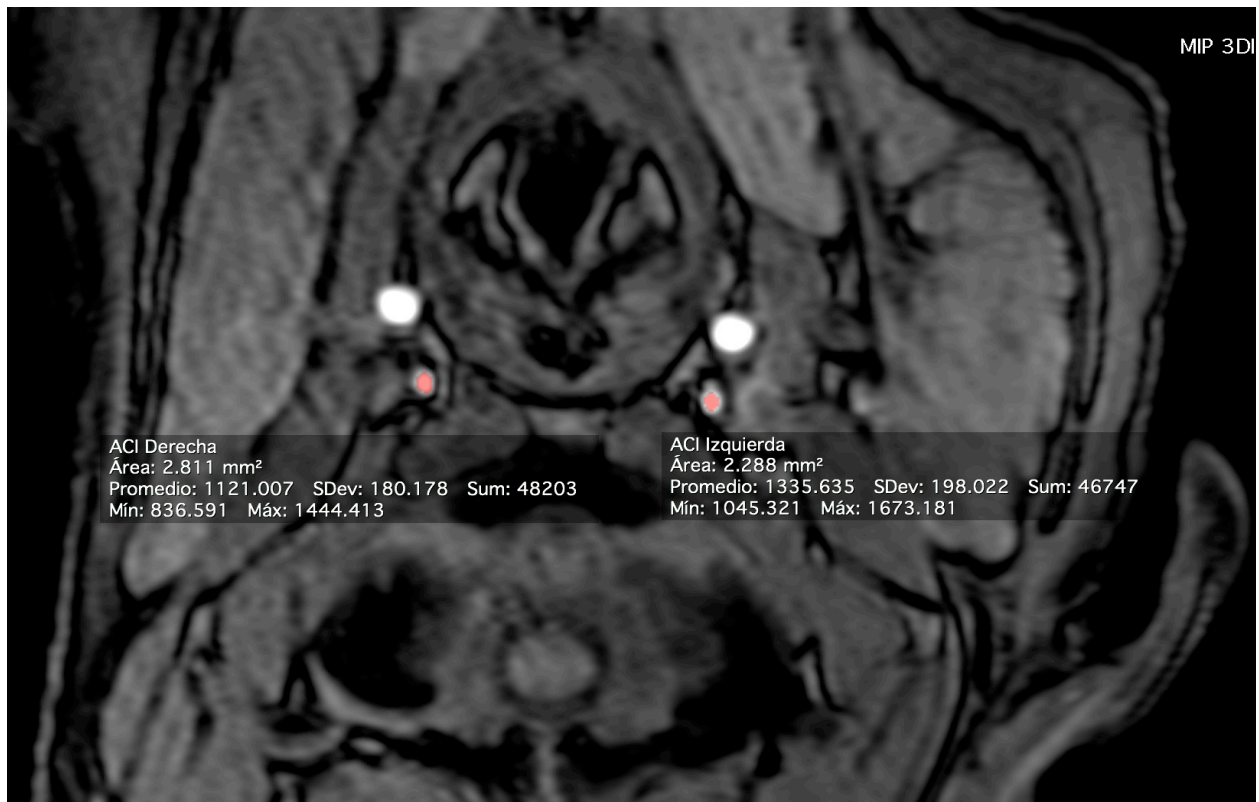


Figura 21. Segmentación de arterias carótidas internas.

El análisis se realizó usando el software Osirix, tomando 5 rebanadas que corresponden a los cortes posteriores a la primer bifurcación. Se propagaron ROI 2D sobre cada corte colocando el cursor en el centro de cada arteria carótida realizando el algoritmo de crecimiento de regiones [43]. Se obtuvieron las áreas en  $\text{mm}^2$  (Figura 21), se promediaron y se normalizaron con respecto a la línea de base de cada cerdo. Para observar el espacio de medición, se realizó la reconstrucción 3D de las 5 rebanadas utilizadas (Figura 22) y se ubicaron sobre la reconstrucción 3D para cada estudio (Figura 23).

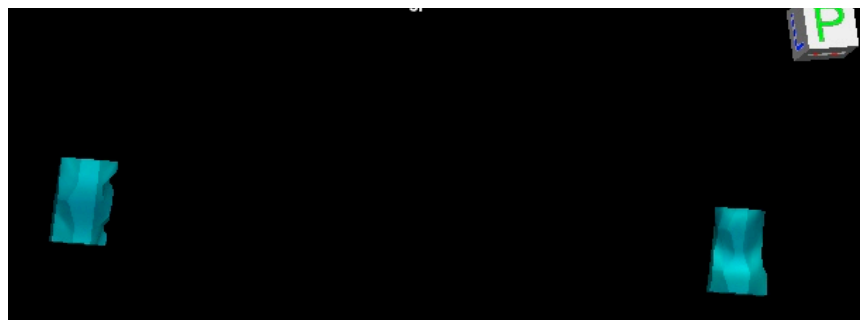


Figura 22. Reconstrucción volumétrica de las áreas de las arterias carótidas internas.



Figura 23. Ubicación del espacio de medición de las áreas de las arterias carótidas internas.

A) Vista posterior. B) Vista de lado posterior izquierda.

### 4.4.3 Evaluación de las secuencias de Q-Flow

Para el grupo con una sola sesión de estimulación se realizó un tercer análisis con secuencias de flujo cuantitativo (Q-flow), utilizando el software de Philips. Las imágenes muestran el flujo en ml/min sobre un corte transversal, en el que se muestran las arterias carótidas externas e internas, para la medición se colocaron ROI's elípticas de  $0.5\text{mm}^2$  (Figura 24A) sobre las arterias carótidas internas, se promediaron los 5 puntos de mayor intensidad (Figura 24B) y se normalizaron contra su línea de base para su análisis [33].

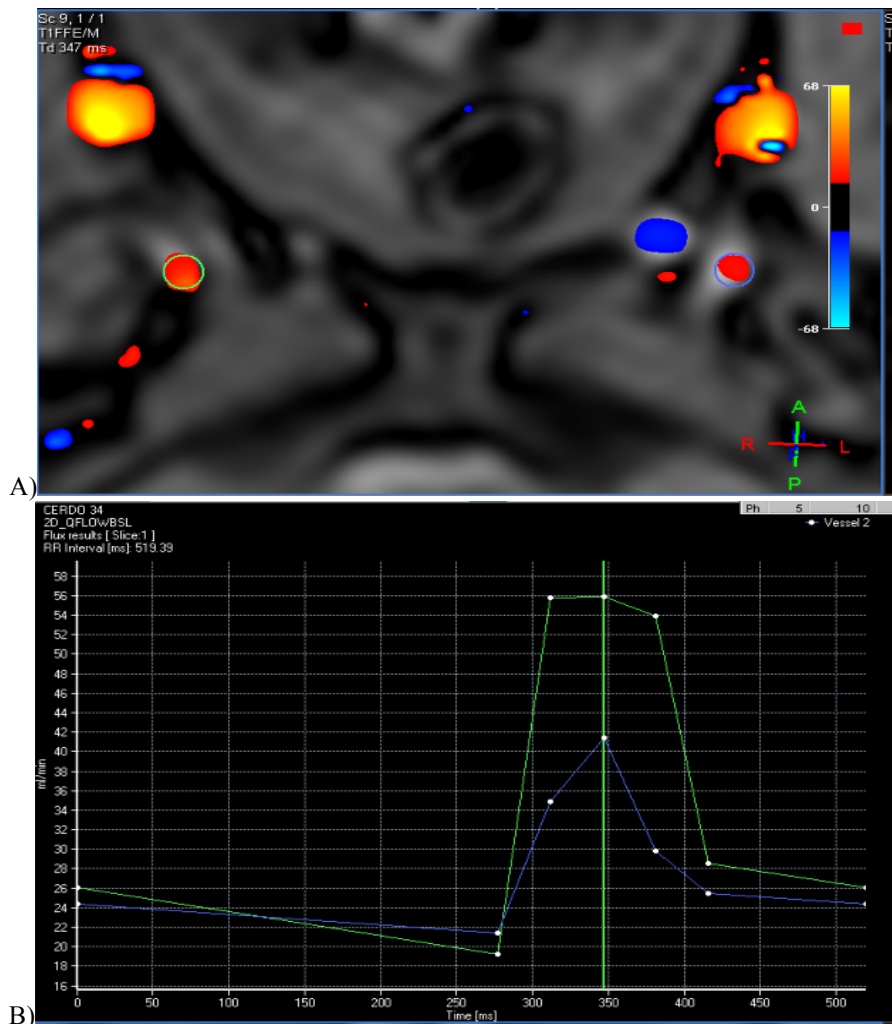


Figura 24. Análisis de Q-Flow

A) Imagen de las ROI's en verde para la arteria carotida derecha y en azul para la izquierda, B) Gráfica de los 5 puntos de mayor intensidad para cada ROI.



## 5. Resultados

---

### 5.1 Resultado de imágenes de perfusión

En la figura 25 se puede observar el efecto de la estimulación en el cerebro, esto en los distintos intervalos de tiempo de medición. La figura 26 muestra las gráficas en las que se observa el efecto de la EM y su interacción entre parámetros. El efecto de incremento del FSC lo podemos observar en la Figura 27A; en la cual se tiene el seguimiento en los distintos intervalos de tiempo promediando a todos los sujetos con en el fin de observar el efecto de la segunda estimulación. La Figura 27B es el resultado del ensayo con un sola sesión de estimulación, en el cual únicamente estimulamos una vez al sujeto. Comparando el efecto de estimular sólo una vez con respecto a hacerlo una segunda ocasión (Figura 28), observamos que con una segunda estimulación podemos aumentar la ventana de tiempo del efecto de estimulación.

El resultado de la ANOVA de medidas repetidas no mostró diferencia significativa en la aplicación de parámetros de tiempo y potencia.

Para el parámetro de estimulación mayor (95% a 5 min) se observó un aumento de la temperatura en la superficie de la bobina de aproximadamente 33 ° C y un consumo de corriente

de 152 A/ $\mu$ s, esto se traduce en un riesgo para el paciente y para el equipo (el equipo tiene un sistema de protección con el cual se desactiva al llegar a 35 °C). Para los parámetros de 65% y 2 min, se obtuvo 20 ° C en la superficie de la bobina y un consumo máximo de corriente de 104 A/ $\mu$ s.

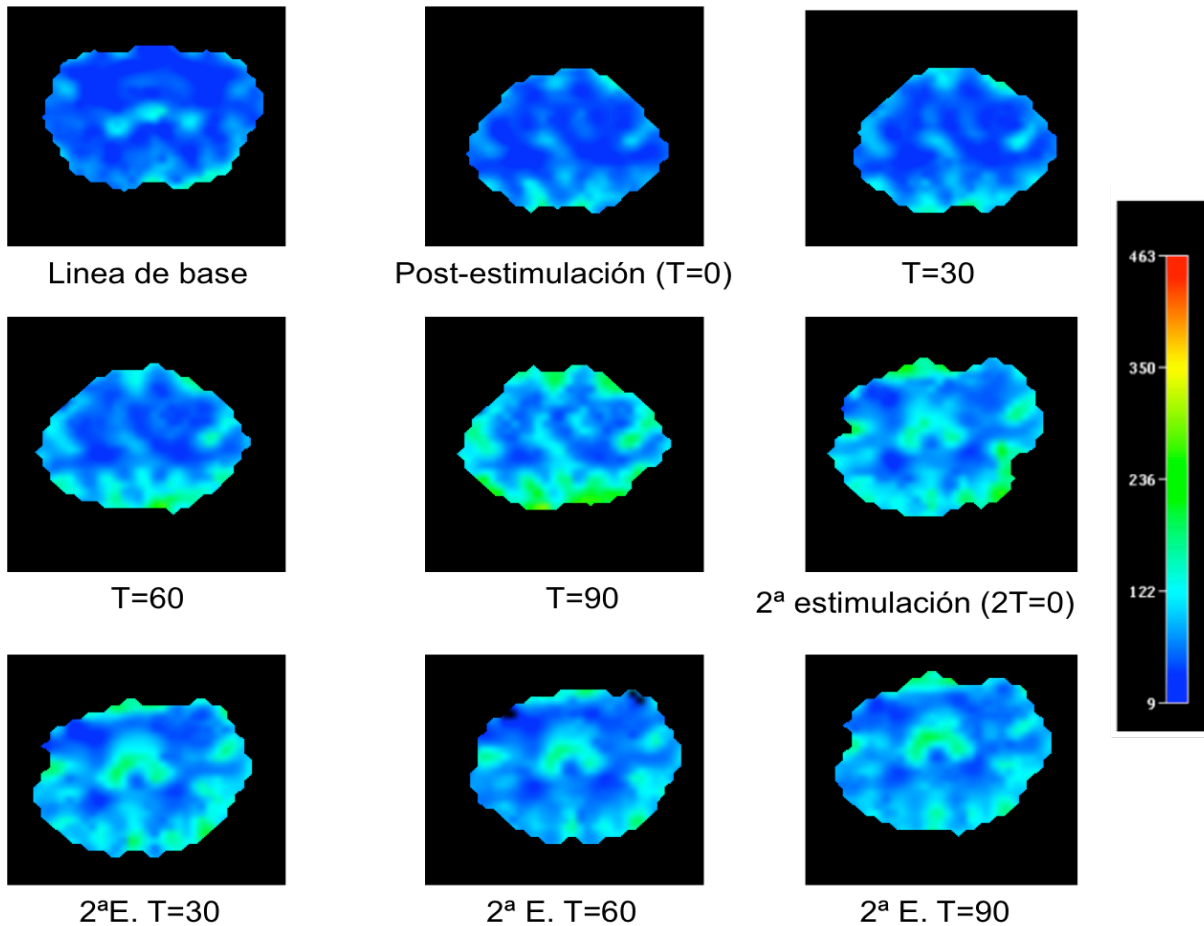


Figura 25. Imágenes de perfusión por RM que muestran el efecto de la estimulación en el cerebro.

Imágenes del cerebro de cerdo con estimulación de 95% y 5 min., tomadas por perfusión por RM observadas con el software de Philips que muestran el incremento en la perfusión sanguínea cerebral. T=0 corresponde a la primera captura después de estimular. T=30, T=60 y T=90 corresponde a la evaluación pasados 30, 60 y 90 min. después de la estimulación respectivamente. 2T=0 corresponde a la imagen tomada después de aplicar una segunda estimulación al mismo sujeto. 2T=30, 2T=60 y 2T=90 corresponde a las imágenes tomadas 30, 60 y 90 min. después de haber aplicado una segunda estimulación respectivamente.

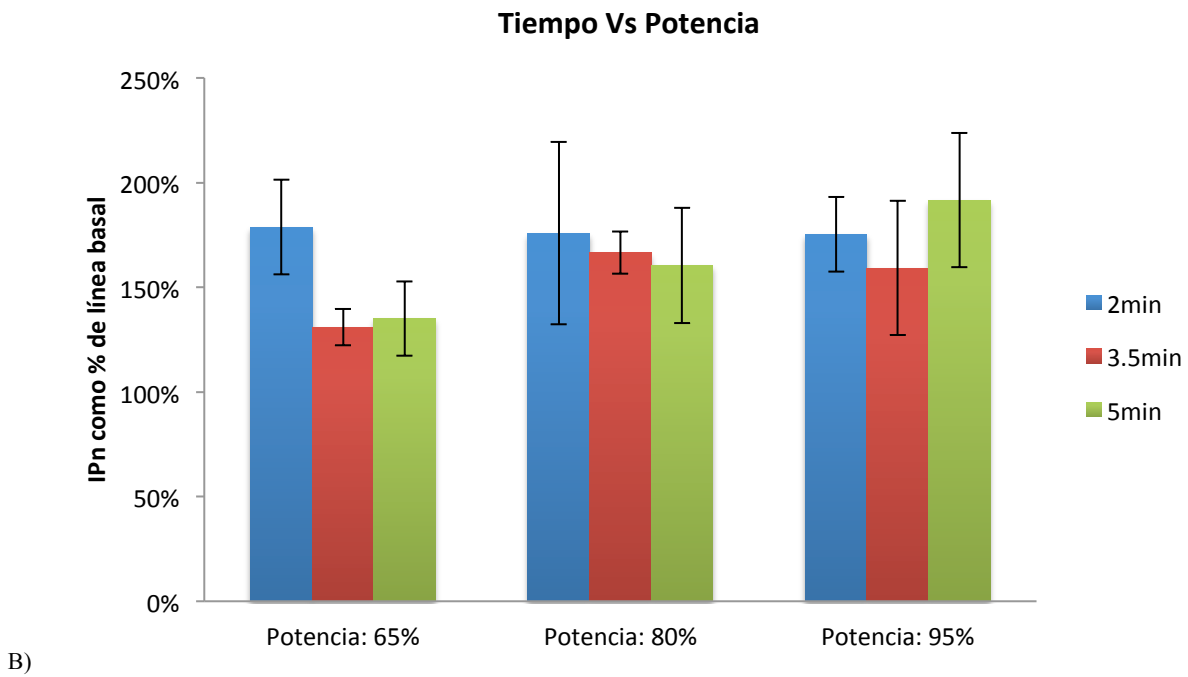
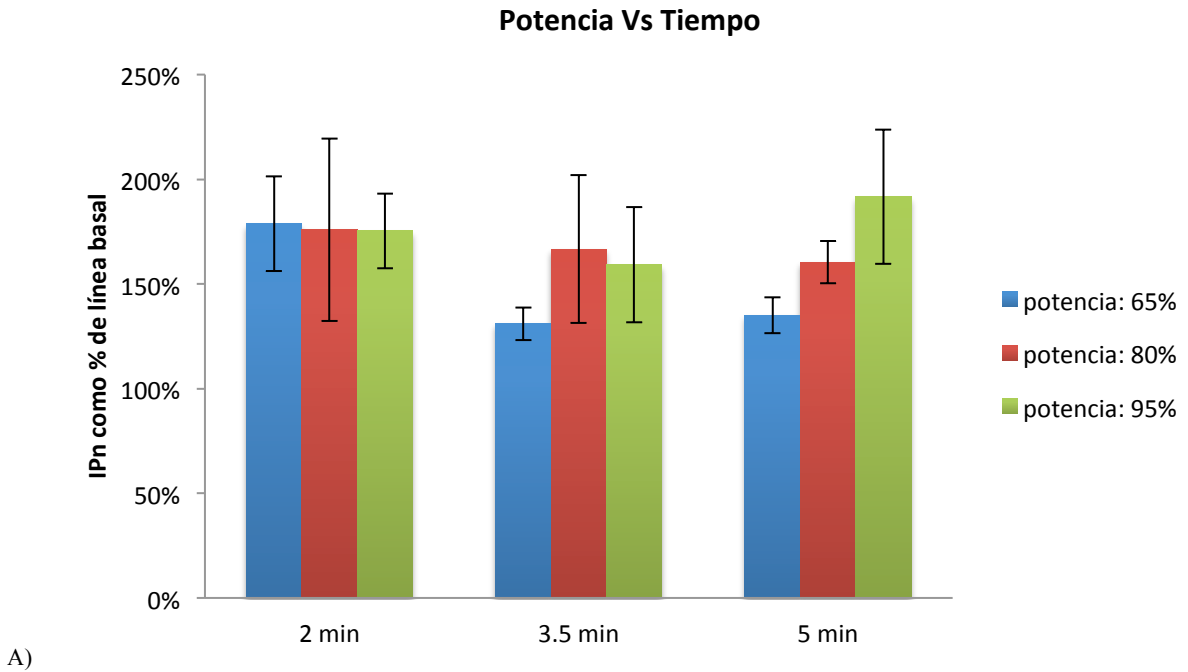
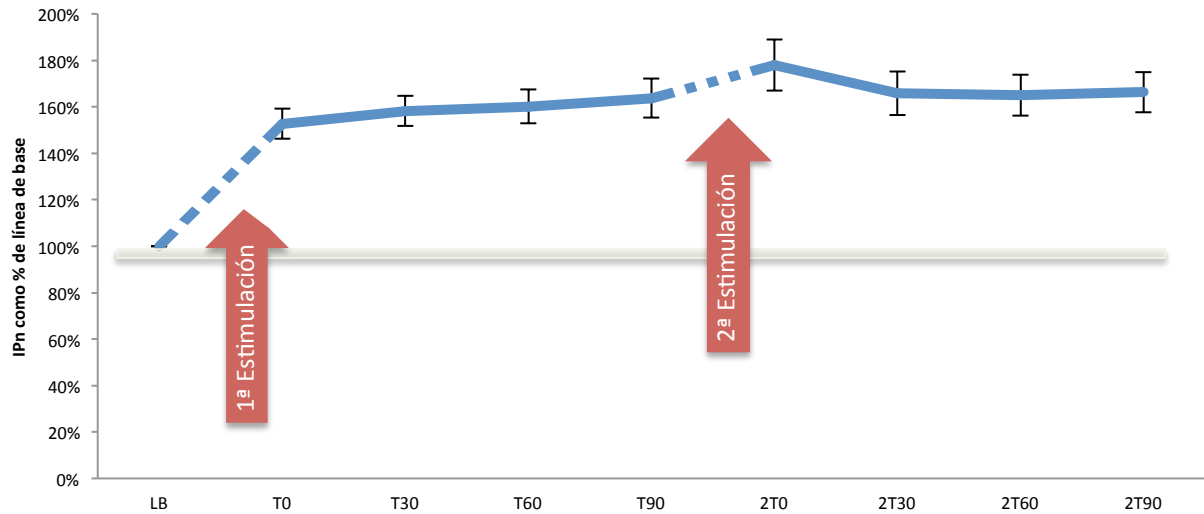
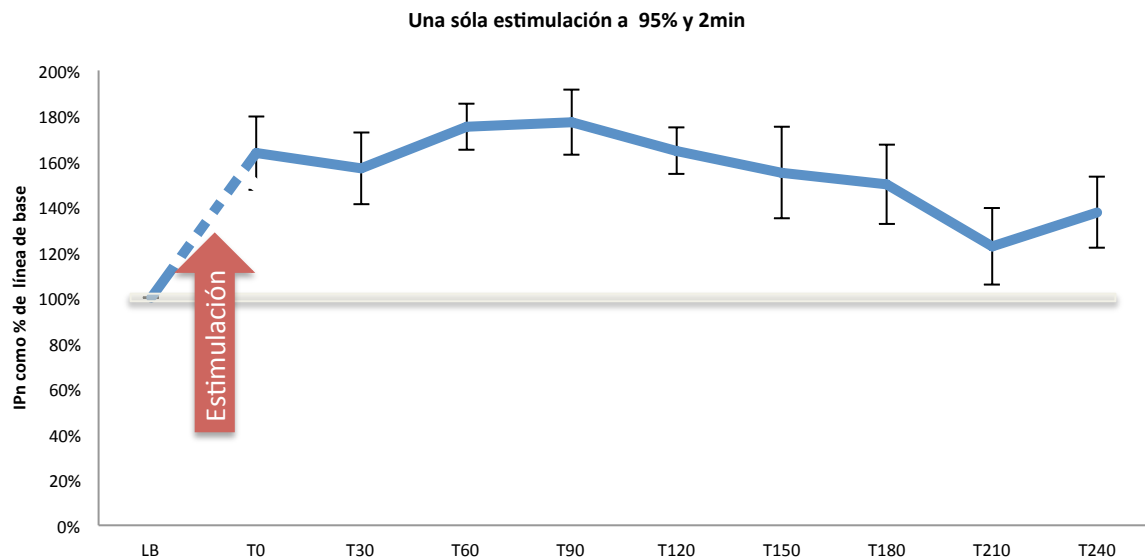


Figura 26. Interacción entre parámetros.

A) Efecto de la EM sobre el FSC en cerdos, comparando potencia con respecto al tiempo de estimulación. B) Efecto de estimulación sobre el FSC, comparando tiempo con respecto a la potencia. IPn= índice de perfusión normalizado, Promedio±EEM.



A)



B)

Figura 27. Incremento del FSC a lo largo del tiempo.

A) Ensayo con dos sesiones de estimulación. LB=línea de base (sin estimulación), T=0 corresponde a la primera medición después de estimular. T30, T60 y T90 corresponde a la medición pasados 30, 60 y 90 min. después de la estimulación respectivamente. 2T0 corresponde a la medición tomada después de aplicar una segunda estimulación al mismo sujeto. 2T30, 2T60 y 2T90 corresponde a la medición tomada 30, 60 y 90 min. después de haber aplicado una segunda estimulación respectivamente, n=27. Promedio±EEM. B) Incremento del FSC a lo largo del tiempo aplicando una sola estimulación con un parámetro de 95% y 2 min de estimulación. LB=línea de base (sin estimulación), T=0 corresponde a la primera medición después de estimular. T30 corresponde a la medición pasados 30 min. después de la estimulación y así sucesivamente hasta llegar a 240 min después de la estimulación. n=3. Promedio±EEM. Abreviaturas: EM: Estimulación magnética, IPn: índice de perfusión normalizado.

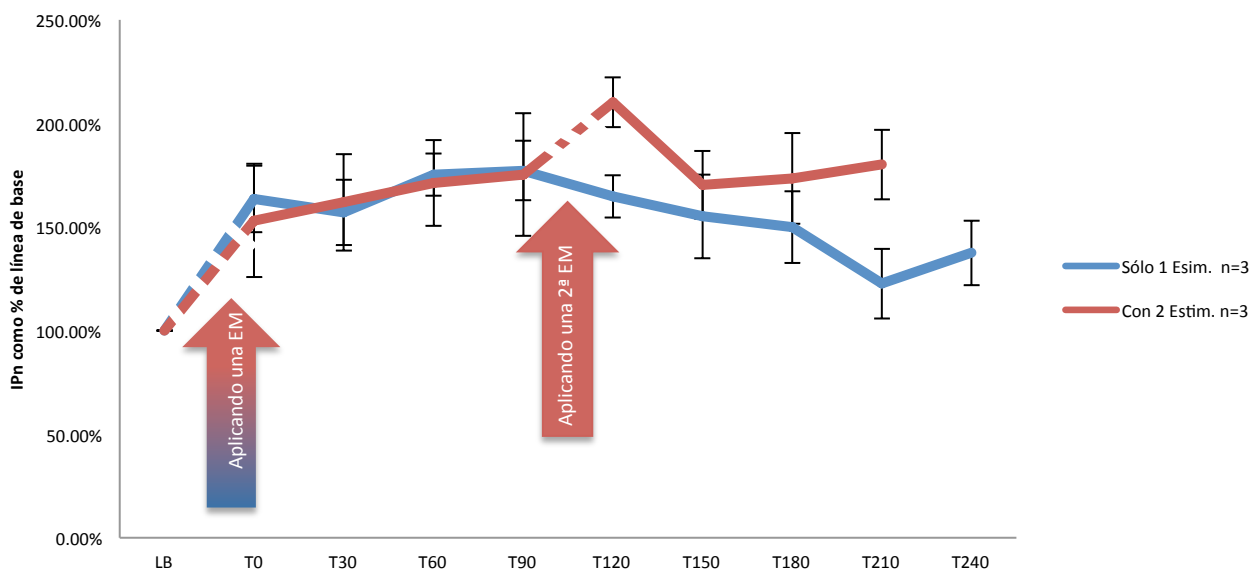


Figura 28. Comparación del efecto de una y dos sesiones de estimulación magnética en cerdos.

Incremento del FSC a lo largo de distintos intervalos de tiempo aplicando una sola EM con un parámetro de 95% y 2 min de estimulación con una  $n=3$  (línea azul). Y el efecto cuando se utiliza el mismo parámetro pero aplicando una segunda EM con una  $n=3$  (línea roja). LB=línea de base (sin estimulación),  $T=0$  corresponde a la primera medición después de estimular.  $T30$  corresponde a la medición pasados 30 min. después de la estimulación y así sucesivamente hasta llegar a 240 min después de la estimulación. Promedio $\pm$ EEM. Abreviaturas: EM: Estimulación magnética, IPn: índice de perfusión normalizado.

El efecto de incremento del FSC fue por arriba del 50% sobre la línea basal para el promedio de los ensayos. Sin embargo, observamos 2 ensayos (para el parámetro 65% de potencia aplicado por 3.5 minutos) en los que no obtuvimos un incremento significativo del FSC (aproximadamente 15% sobre la línea basal) después de recibir una segunda estimulación. Un ensayo con el parámetro de 80% de potencia por 2 minutos reportó un incremento del 15% sobre la base para la primera estimulación y 18% para la segunda. Y en un ensayo con el parámetro 95% por 2 minutos obtuvimos un incremento del 6% sobre la base para la primera estimulación y 26% para la segunda.

## 5.2 Resultado de Angiografías

La siguiente gráfica muestra el incremento del área de las arterias carótidas internas en porcentaje con respecto a la línea de base, donde el 100% representa el estado basal.

## Áreas de arterias carótidas internas

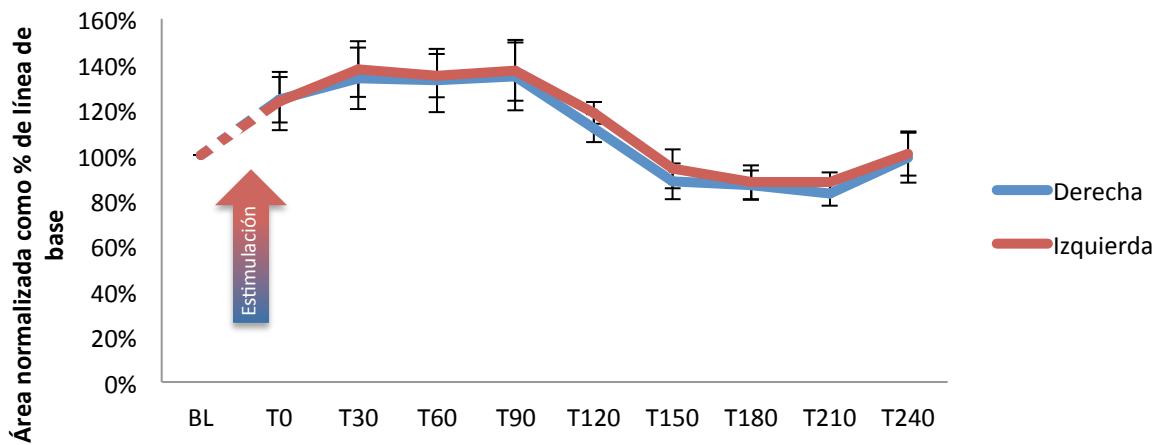


Figura 29. Resultado de la medición de áreas de las arterias carótidas internas de los cerdos.

## 5.3 Resultado de Q-Flow

La gráfica del análisis de Q-flow (Figura 30) representa el porcentaje de flujo medio con respecto a línea de base de las arterias carótidas internas, donde el 100% representa el estado basal. Y se puede observar una tendencia similar con respecto al análisis de perfusión y al de áreas por ARM.

## Flujo sanguíneo en arterias carótidas internas

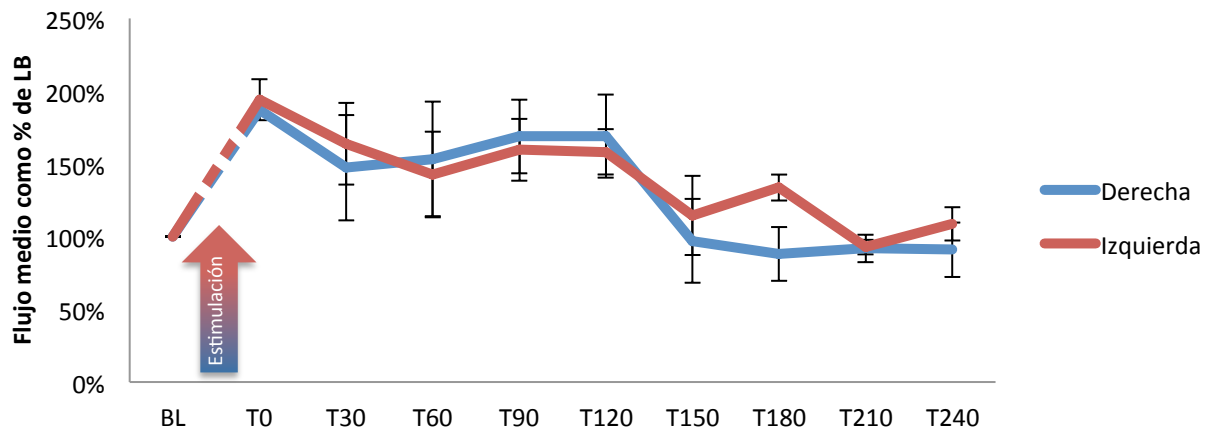


Figura 30. Flujo sanguíneo en arterias carótidas internas de los cerdos.

## 6. Discusión

---

El presente trabajo tuvo como objetivo encontrar los parámetros óptimos de EM del nervio facial para incrementar el FSC en cerdos sanos. En cuanto al efecto debido a la variación del tiempo y la potencia de estimulación, no se obtuvieron diferencias significativas. En caso de la aplicación de una segunda sesión de estimulación al mismo sujeto, pasados aproximadamente 100 min. de su primera estimulación, se observó una mayor duración en el incremento en perfusión sanguínea cerebral que al aplicar solamente una sesión.

El objetivo de variar la potencia y el tiempo de estimulación es el de encontrar el límite inferior del efecto en la curva de respuesta, es decir, los parámetros a los que no se obtiene un incremento significativo en el FSC; sin embargo, en nuestros resultados, no hemos podido encontrar este límite, ya que con un 65% y un tiempo de 2 minutos continuamos observando un aumento significativo en perfusión. Podemos asegurar, entonces, la seguridad del paciente usando un parámetro de 65% y 2 min, obteniendo en términos de temperatura en la superficie de la bobina cerca de 20 ° C y un consumo máximo de corriente de 104 A/ $\mu$ s.



En experimentos previos realizados en perros, con modelo de ACV isquémico, después de la estimulación se produjo un incremento en perfusión  $>40\%$  [4]; en este ensayo se reporta, en promedio, un aumento significativo del FSC aproximadamente el 70% respecto al valor basal. No hubo diferencia significativa en el incremento de perfusión entre los diferentes grupos de prueba, esto es, no encontramos la dosis mínima efectiva.

Con respecto a la duración del efecto fisiológico observamos que con la aplicación de una estimulación adicional aproximadamente 100 min después de la primera, el efecto dura más de 3 horas. Con la segunda estimulación se observa un pico en la curva del incremento en perfusión justo después de aplicarse la EM para posteriormente mantenerse en un nivel equivalente al observado después de la primera estimulación; esto indica que se llega a un incremento máximo en FSC. Realizando la comparación con el grupo que sólo recibió una estimulación se observa que el efecto con la segunda estimulación es significativamente mayor después de 90 min, justo después de realizar la segunda estimulación. Esto concuerda con estudios anteriores en los que se reportó que el efecto disminuía al paso de 90 min [4] y justifica el uso de una segunda estimulación para prolongar el efecto.

El incremento en perfusión cerebral sugiere que la estimulación magnética del nervio facial produce un efecto vasodilatador en las arterias carótidas internas, logramos observar este incremento en el área por medio de un análisis de angiografías por RM, así mismo, se observa el incremento en el FSC a través de estas arterias, por medio de imágenes 2D en un corte que muestra las 4 arterias resultantes de la primera bifurcación de las arterias carótidas comunes izquierda y derecha, en secuencias de Q-Flow por medio de RM. La comparación de las tres técnicas de RM, usadas en el ensayo con sólo una estimulación, muestran una tendencia similar en los resultados, un incremento  $>40\%$  sobre su línea de base en perfusión, flujo y área de arterias carótidas internas, respectivamente, y la disminución del efecto al paso de 90 minutos.

Dado que la estimulación fue aplicada al ganglio geniculado del lado izquierdo en todos los sujetos, se supondría, de acuerdo a estudios previos [4], que el efecto se produciría de forma ipsilateral al sitio de estimulación, sin embargo no observamos esta diferencia estadísticamente significativa, excepto en el tiempo T180 del análisis de Q-Flow. Los estudios de Q-Flow y áreas

en angiografías por RM de arterias carótidas internas soportan el resultado de las imágenes de perfusión por RM, pero no dan base para creer que la estimulación se produce de forma ipsilateral a la estimulación, se cree que esto se debe al tamaño de la muestra ya que sí muestra un pequeño predominio subjetivo y en uno de los tiempos en el análisis de Q-Flow la diferencia alcanza a ser estadísticamente significativa .

Los estudios que sirvieron de base fueron realizados en ovejas y perros [3,4], realizar este estudio en cerdos significa cambios estructurales y anatómicos, a parte de ser una muestra de sujetos sanos, esto es un parámetro fundamental para justificar las diferencias obtenidas, como la bilateralidad del efecto y que no se encontrara los parámetros mínimos de estimulación; podemos adaptar el modelo y encontrar diferencias entre especies. Observamos entonces la respuesta por especie, que no necesariamente son aplicados a humanos pero nos da una pauta para poder exportar los datos obtenidos con tres especies distintas hacia un estudio clínico.

En este estudio observamos a 3 sujetos sin respuesta (incremento del FSC por debajo del 20% sobre la línea basal), haciendo una revisión con la intención de encontrar la razón, concluimos que no fue cuestión de peso, tamaño, sexo, inclusive fueron parámetros diferentes los utilizados; lo cual nos deja una gran incógnita.

## 7. Conclusiones y perspectivas

---

### 7.1 Conclusión

El efecto de la EM del nervio facial en el incremento del flujo sanguíneo cerebral, al modificar parámetros de EM. No se encontró diferencia significativa en los parámetros de tiempo y potencia de estimulación, esto es, no encontramos la dosis mínima efectiva.

En el caso de aplicar una segunda estimulación, se demostró que el efecto del incremento en perfusión cerebral se prolonga por más de 3 horas y media en comparación de aplicar una sola, en el cual el efecto comienza a disminuir pasados 90 minutos.

## 7.2 Perspectivas

Los resultados dan bases para continuar con el desarrollo de un prototipo clínico para evaluar la seguridad y eficacia en la estimulación magnética del nervio facial para incrementar el FSC. Sin embargo, los resultados sugieren la repetición de estos experimentos, con parámetros de potencia y tiempo del estímulo aún más bajos, con la finalidad de encontrar los límites inferiores de estimulación efectiva.

También se observó que el efecto de una segunda estimulación prolonga el tiempo del efecto de estimulación, por lo cual sería útil conocer el efecto de estimulaciones múltiples y su alcance.

Una parte importante del estudio es poder evaluar variables fisiológicas como la presión arterial y conocer su implicación, evaluar efectos secundarios y concluir el modelo de un ACV hemorrágico de tal manera que podamos aplicar la estimulación magnética de forma indiscriminada en caso de ACV.

En base a los datos obtenidos, es posible comenzar a trabajar con las mejoras del equipo, estimulador y antena, optimizar la forma y las condiciones mecánicas y eléctricas. Evaluar su aplicación y pasar a un modelo clínico.

Se ha propuesto la aplicación de estimulación magnética en la atención temprana en caso de ACV, como una opción para incrementar el FSC y brindar una ventana de tiempo mayor para ser atendidos y reducir así las secuelas, sin embargo, se sospecha que brindar estimulación magnética e incrementar el FSC como tratamiento post-infarto podría ayudar a la terapia de rehabilitación.

### 7.3 Trabajo futuro

Como trabajo a futuro se propone realizar un estudio en el cual se evalúen parámetros de potencia alrededor de 1 Tesla y en tiempos de estimulación de menores a 2 min. Con los parámetros en los que se logre observar el efecto deseado en cuanto a incremento del flujo sanguíneo cerebral, realizar más de una estimulación para observar el efecto de la estimulación repetitiva en el mismo sujeto y establecer el tiempo en cual aplicar estimulación magnética provee un incremento en la perfusión cerebral suficiente para mantener normofuncionante al cerebro y así ser atendido con el tratamiento indicado para el tipo de ACV diagnosticado.

Otra parte importante a realizar es conocer las cuestiones que implica pasar de un modelo en animales ( en este caso, cerdos) a un prototipo clínico. Cuestiones anatómicas como la distancia de la superficie sobre el oído al ganglio geniculado y las respuestas fisiológicas.

# Referencias

---

- [1] SINAIS, “Principales causas de mortalidad general”, <http://sinais.salud.gob.mx/mortalidad>  
Última modificación: Friday, 2011-07-01 17:02 por la Dirección General de Información en Salud.
- [2] A. Shuaib, K. Butcher, A. a Mohammad, M. Saqqur, and D. S. Liebeskind, “Collateral blood vessels in acute ischaemic stroke: a potential therapeutic target.,” *Lancet Neurol.*, vol. 10, pp. 909–21, 2011.
- [3] M. K. Borsody, C. Yamada, D. Bielawski, T. Heaton, B. Lyeth, A. Garcia, F. Castro Prado, J. Azpiroz, and E. Sacristan, “Effect of pulsed magnetic stimulation of the facial nerve on cerebral blood flow,” *Brain Res.*, vol. 1528, pp. 58–67, 2013.
- [4] M. K. Borsody, C. Yamada, D. Bielawski, T. Heaton, F. C. Prado, A. García, J. Azpiroz, E. Sacristan, “Effects of Noninvasive Facial Nerve Stimulation in the Dog Middle Cerebral Artery Occlusion Model of Ischemic Stroke”, *Stroke*, vol. 45, pp. 1102-1107, 2014.
- [5] R. Snell, “Neuroanatomía clínica”, 6ª edición, Ed. Médica Panamericana, pp. 515-523, 2007.
- [6] N. M. Branston, “The physiology of the cerebrovascular parasympathetic innervation.,” *Br. J. Neurosurg.*, vol. 9, pp. 319–329, 1995.
- [7] D. U. Silverthorn, " Fisiología Humana. Un enfoque integrado", 4ª edición, Ed. Médica Panamericana. pp. 291–327, 2010.
- [8] J. A. Ramírez and R. G. Guzmán, “Enfermedad cerebrovascular , epidemiología y prevención,” *Rev Fac Med UNAM*, vol. 50, no. 1, pp. 36–39, 2007.

- [9] A. C. Rayo, O. M. Olazo, G. L. Hernandez, R. J. Ocana, V. R. Barrientos, J. L. Castellanos, R. M. Garcia, R. C. Juarez, F. S. Mata, L. A. Torrecilla, and U. R. Nava, "Epidemiology of cerebrovascular disease in Mexico city hospitals. Multicentric study. [Spanish] Epidemiologia de la enfermedad vascular cerebral en hospitales de la Ciudad de Mexico. Estudio multicentrico," *Med. Interna Mex.*, vol. 24, pp. 98–103, 2008.
- [10] National Stroke Association, Stroke Awareness Resource Center, <http://www.stroke.org/stroke-resources/raise-awareness-stroke/stroke-awareness-resource-center>. Accessed December 15, 2014.
- [11] V. Obach, A. Aleu, M. Ribo, C. H. Castano, F. Romero, M. A. De Miquel, X. Urra, J. Marti, J. Roquer, J. Serena, F. Rubio, J. Macho, A. Chamorro, A. Davalos, and J. Alvarez-Sabin, "Neurointerventional treatment of acute ischemic stroke. The catalonian tertiary stroke program," *Cerebrovasc. Dis.*, vol. 29, pp. 232–233, 2010.
- [12] L. M. Torres. "Tratado de anestesia y rehabilitación", Ed. Arán, pp 425-458, 2001.
- [13] C. E. Navarro, "Neurocirugía para médicos generales", Ed. Universidad de Antioquía, pp. 312-323, 2006.
- [14] J. P. Frizzell, "Acute stroke: pathophysiology, diagnosis, and treatment," *AACN Clin. Issues*, vol. 16, pp. 421–440, 2005.
- [15] L. R. Wechsler, "Imaging evaluation of acute ischemic stroke.," *Stroke.*, vol. 42, pp. S12–S15, 2011.
- [16] D. Longo, A. Fauci, D. Kasper, S. L. Hauser, "Harrison Manual de Medicina Interna," 18<sup>a</sup> ed. Ed. McGrawhill, pp. 86–111, 2012.
- [17] L. G. D'Alecy and C. J. Rose, "Parasympathetic cholinergic control of cerebral blood flow in dogs," *Circ. Res.*, vol. 41, no. 3, pp. 324–331, Sep. 1977.
- [18] P. J. Goadsby, "Characteristics of facial nerve-elicited cerebral vasodilatation determined using laser Doppler flowmetry.," *Am. J. Physiol.*, vol. 260, pp. R255–R262, 1991.



- [19] P. J. Goadsby and K. L. Hoskin, "Cerebral blood flow is not coupled to neuronal activity during stimulation of the facial nerve vasodilator system," *Brain Res.*, vol. 647, no. 2, pp. 192–198, Jun. 1994.
- [20] N. Henninger and M. Fisher, "Stimulating circle of Willis nerve fibers preserves the diffusion-perfusion mismatch in experimental stroke.," *Stroke.*, vol. 38, no. 10, pp. 2779–86, Oct. 2007.
- [21] I. Sato, Izumi , Karita, "Comparative Effects of Lingual and Facial Nerve Stimulation on Intracranial and Extracranial Vasomotor Responses in Anesthetized Cats," *Tohoku J. Experimental Med.*, vol. 182, no. 2, pp. 103–113, 1997.
- [22] N. Toda, K. Ayajiki, T. Tanaka, and T. Okamura, "Preganglionic and postganglionic neurons responsible for cerebral vasodilation mediated by nitric oxide in anesthetized dogs.," *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, vol. 20, no. 4, pp. 700–8, Apr. 2000.
- [23] K. Ayajiki, S. Kobuchi, M. Tawa, and T. Okamura, "Nitregic nerves derived from the pterygopalatine ganglion innervate arteries irrigating the cerebrum but not the cerebellum and brain stem in monkeys," *Hypertension Research*, vol. 35. pp. 88–92, 2012.
- [24] M. J. T. Fitzgerald, G. Gruener, and E. Mtui, "Clinical Neuroanatomy and Neuroscience", 6<sup>a</sup> ed., *Saunders Elsevier*, pp. 229-245, 2007.
- [25] F. H. Netter, J. A. Craig, and J. Perkins, *Atlas of Neuroanatomy and Neurophysiology*, 2<sup>a</sup> ed., *Icon Learning Systems*, pp. 1–98, 2002.
- [26] S. Chokroverty, W. Hening, D. Wright, T. Walczak, J. Goldberg, R. Burger, J. Belsh, B. Patel, D. Flynn, and S. Shah, "Magnetic brain stimulation: safety studies.," *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 97, pp. 36–42, 1995.
- [27] M. A. Ibiricu and G. Morales, "Transcranial magnetic stimulation", *An. Sist. Sanit. Navar.*, vol. 32 Suppl 3, pp. 105–113, 2009.

- [28] A. Pascual-Leone and J. M. Tormos-Muñoz, “Transcranial magnetic stimulation: the foundation and potential of modulating specific neuronal networks,” *Rev. Neurol.*, vol. 46 Suppl 1, pp. S3–S10, 2008.
- [29] A. Berardelli, M. Inghilleri, J. C. Rothwell, S. Romeo, A. Currà, F. Gilio, N. Modugno, and M. Manfredi, “Facilitation of muscle evoked responses after repetitive cortical stimulation in man,” *Exp. Brain Res.*, vol. 122, pp. 79–84, 1998.
- [30] D. M. Paret, A. Pérez, and F. Bloch, “Resonancia magnética,” *Exp. Av. Física*, pp. 1–11, 2004.
- [31] D. W. Mcrobbie, E. A. Moore, M. J. Graves, and M. R. Prince, “Radiology MRI : From Picture to Proton,” *Radiology*, p. 474, 2004.
- [32] J. A. Guzmán-de-Villoria, P. Fernández-García, J. M. Mateos-Pérez, and M. Desco, “Studying cerebral perfusion using magnetic susceptibility techniques: technique and applications.,” *Radiologia*, vol. 54, pp. 208–220, 2012.
- [33] PHILIPS, “Application Guide: Vol. 2 Scan Methods,” vol. 2. Achieva/Panorama Release 3.2 Series.
- [34] D. D. Blakeley, E. Z. Oddone, V. Hasselblad, D. L. Simel, and D. B. Matchar, “Noninvasive carotid artery testing: A meta-analytic review,” *Ann. Intern. Med.*, vol. 122, pp. 360–367, 1995.
- [35] D. D. Blatter, D. L. Parker, and R. O. Robison, “Cerebral MR angiography with multiple overlapping thin slab acquisition. Part I. Quantitative analysis of vessel visibility.,” *Radiology*, vol. 179, pp. 805–811, 1991.
- [36] B. C. Bowen, R. M. Quencer, P. Margosian, and P. M. Pattany, “MR angiography of occlusive disease of the arteries in the head and neck: Current concepts,” *American Journal of Roentgenology*, vol. 162, pp. 9–18, 1994.

- [37] J. M. Pope and S. Yao, “Quantitative NMR Imaging of Flow,” *Concepts Magn. Reson.*, vol. 5, pp. 281–302, 1993.
- [38] D. Meier, S. Maier, and P. Bösiger, “Quantitative flow measurements on phantoms and on blood vessels with MR.,” *Magn. Reson. Med.*, vol. 8, pp. 25–34, 1988.
- [39] M. del C. Navas-Aparicio, C. Mora-Mesén, A. Rojas-Madrigal, M. J. Acuña-Navas, and A. Umaña-Calderón, “Guía práctica para disección e identificación de estructuras anatómicas a nivel facial en un animal porcino,” *Rev. Esp. Cir. Oral y Maxilofac.*, vol. 35, pp. 69–73, 2013.
- [40] K. A. Grimm, J. C. Thurmon, W. J. Tranquilli, G. J. Benson, and S. A. Greene, “Anesthetic and cardiopulmonary effects of propofol in dogs premedicated with atropine, butorphanol, and medetomidine”, *Vet Ther*, Vol. 2(1), pp. 1-9, 2001.
- [41] B. L. Buzzard, L. N. Edwards-Callaway, T. E. Engle, T. G. Rozell, and S. S. Dritz, “Evaluation of blood parameters as an early assessment of health status in nursery pigs,” *J. Swine Heal. Prod.*, vol. 21, pp. 148–151, 2013.
- [42] R. Lara, F. Maldonado, J. Azpiroz, et al. 2013. “Técnica de neuronavegación para ubicación exacta y precisa de estructuras cerebrales a partir de imágenes generadas por resonancia magnética”, *XXXVI Congreso Nacional de Ingeniería biomédica, CNIB* 2013.
- [43] A. Mehnert and P. Jackway, “An improved seeded region growing algorithm,” *Pattern Recognition Letters*, vol. 18. pp. 1065–1071, 1997.

## ANEXOS

---

# ANEXO 1. Protocolo de estimulación con dos sesiones de estimulación

## STIMULATION

stage	time (min)	v	procedure	room	responsible
preparation	20		pretreatment	Qx	Mauricio +Olivia+Alejandro+Andrés
			place IV		
			induction		
			intubation		
			anesthesia		
			tie animal down		
	5		<b>CONFIRM VITALS AND ABG IN NORMAL RANGE; ADJUST UNTIL IN NORMAL RANGE</b>		Olivia/Martín
			<b>MEASURE BODY TEMPERATURE</b>		Olivia/Martín
transfer	5		removal animal from MR + move gurney		Everybody
			move air way + arterial line		Everybody
			move anesthesia machine		Everybody
			power cord + oxygen line		Everybody
baseline imaging	30		T1	MR	Alejandro+Andrea+Olivia
			brainstem high-resolution T2		
			perfusion with contrast (study # _____)		
T1 & T2 processing	0		T1 & T2 file transformation	tomo	Rafel/Fer
			fiducial identification (T1)		
			target identification (T2)		
transfer	5		removal animal from MR + move gurney		Everybody
			move air way + arterial line		Everybody
			move anesthesia machine		Everybody
			power cord + oxygen line		Everybody
stimulation	15		<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>	tomo	Olivia/Martín
			registration		
			coil placement		
transfer	5		stimulation		Rafel + Fernanda
			removal animal from MR + move gurney		Rafel/Fernanda
			move air way + arterial line		Rafel/Fernanda
			move anesthesia machine		Everybody
t=0 post-stim imaging			power cord + oxygen line	MR	Alejandro+Andrea+Olivia
			perfusion with contrast (study # _____)		
			perfusion with contrast (study # _____)		
t=30 post-stim imaging			<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>		Olivia/Martín
t=60 post-stim imaging	30		perfusion with contrast (study # _____)		Olivia/Martín
			<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>		Olivia/Martín
t=90 post-stim imaging	30		perfusion with contrast (study # _____)		Olivia/Martín
			<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>		Olivia/Martín
			<b>MEASURE BODY TEMPERATURE</b>		Olivia/Martín
transfer	5		removal animal from MR + move gurney		Everybody
			move air way + arterial line		Everybody
			move anesthesia machine		Everybody
			power cord + oxygen line		Everybody
stimulation	15		<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>	tomo	Olivia/Martín
			registration		
			coil placement		
transfer	5		stimulation		Rafel + Fernanda
			removal animal from MR + move gurney		Rafel/Fernanda
			move air way + arterial line		Rafel/Fernanda
			move anesthesia machine		Everybody
t=0 post-stim imaging			power cord + oxygen line	MR	Alejandro+Andrea+Olivia
			perfusion with contrast (study # _____)		
			perfusion with contrast (study # _____)		
t=30 post-stim imaging			<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>		Olivia/Martín
t=60 post-stim imaging	30		perfusion with contrast (study # _____)		Olivia/Martín
			<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>		Olivia/Martín
t=90 post-stim imaging	30		perfusion with contrast (study # _____)		Olivia/Martín
			<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>		Olivia/Martín
			<b>MEASURE BODY TEMPERATURE</b>		Olivia/Martín
Recovery	60		Recovery	Qx	Olivia+Andrea/Martín+Fer/Mauricio
total time (min) =	290				

## ANEXO 2. Protocolo de estimulación del ensayo con una sesión de estimulación

### STIMULATION

stage	time (min)	v	procedure	room	responsible
preparation	20		pretreatment	Qx	Mauricio +Olivia+Alejandro+Andrés Alejandro+Olivia
			place IV		
			induction		
			intubation		
			anesthesia		
	5		tie animal down	Fernanda/Rafael/Mauricio	
			<b>CONFIRM VITALS AND ABG IN NORMAL RANGE; ADJUST UNTIL IN NORMAL RANGE</b>		
			<b>MEASURE BODY TEMPERATURE</b>		
transfer	5		removal animal from MR + move gurney	Everybody	
			move air way + arterial line		
			move anesthesia machine		
			power cord + oxygen line		
baseline imaging	30		T1	MR	Alejandro+Olivia
T1 & T2 processing	0		brainstem high-resolution T2	tomo	Rafel/Fer Rafel/Fer Rafel/Fer
			perfusion with contrast (study # _____)		
			MRA (study # _____)		
			Q-flow (study # _____)		
transfer	5		T1 & T2 file transformation	Everybody	
			fiducial identification (T1)		
			target identification (T2)		
			removal animal from MR + move gurney		
			move air way + arterial line		
stimulation	15		move anesthesia machine	Everybody	
			power cord + oxygen line		
			<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>		
			registration		
transfer	5		coil placement	Everybody	
			stimulation		
			removal animal from MR + move gurney		
t=0 post-stim imaging	10		MRA (study # _____)	MR	Alejandro+Olivia
t=30 post-stim imaging	30		perfusion with contrast (study # _____)	Everybody	
			Q-flow (study # _____)		
			MRA (study # _____)		
t=60 post-stim imaging	30		perfusion with contrast (study # _____)	Everybody	
			Q-flow (study # _____)		
			<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>		
t=90 post-stim imaging	30		MRA (study # _____)	Everybody	
			perfusion with contrast (study # _____)		
			Q-flow (study # _____)		
t=120 post-stim imaging	30		<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>	Everybody	
			MRA (study # _____)		
			perfusion with contrast (study # _____)		
t=150 post-stim imaging	30		Q-flow (study # _____)	Everybody	
			<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>		
			MRA (study # _____)		
t=180 post-stim imaging	30		perfusion with contrast (study # _____)	Everybody	
			Q-flow (study # _____)		
			<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>		
t=210 post-stim imaging	30		MRA (study # _____)	Everybody	
			perfusion with contrast (study # _____)		
			Q-flow (study # _____)		
t=240 post-stim imaging	10		<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>	Everybody	
			MRA (study # _____)		
			perfusion with contrast (study # _____)		
			Q-flow (study # _____)		
Recovery	60		T2 reference (study # _____)	Qx	Olivia/Martín Olivia/Martín Olivia/Martín/Mauricio
			<b>ASSESS VITALS AND ABG</b>		
			<b>MEASURE BODY TEMPERATURE</b>		
total time (min) =	375		Recovery		

### ANEXO 3. Test neurológico

El sistema de puntuación se basa en una técnica neurológica veterinaria común de investigación (Oliver JE, Lorenz MD, Kornegay JN (1997) Handbook of Veterinary Neurology, 3rd edn, Philadelphia, PA: Saunders).

<b>Item</b>	<b>Score points</b>
<b>1. State of activity/consciousness</b>	
Normal	0
Apathy	1
Stupor (no further investigation possible)	(25)
Coma (no further investigation possible)	(27)
<b>2. Food debris remaining in mouth corner</b>	
Yes	1
No	0
<b>3. Torticollis</b>	
Yes	1
No	0
<b>4. Carpus and/or fetlock in partial flexion</b>	
Yes	1
No	0
<b>5. Ataxia/dysmetria</b>	
None	0
Light ataxia (dysmetric limb movements)	1
Medium ataxia (animal staggers)	2
Severe ataxia (animal falls down)	3
<b>6. Circlis movements</b>	
No	0
Occasionally	1
Permanent circling to left side	2
Permanent circling to right side wearing blindfold	+1
<b>7. Right hemistanding reaction</b>	
No disturbance	0
Immediate adjustment using left forelimb, hindlimb without disturbance	1
Delayed adjustment using left forelimb, hindlimb without disturbance	2
Delayed adjustment using both left limbs	3
Delayed adjustment using left forelimb and right hindlimb	4
Delayed adjustment using right limbs	5
No adjustment right forelimb, delayed adjustment using right hindlimb	6
No adjustment in both limbs	7
<b>8. Right hopping reaction</b>	
No disturbance	0
Delayed medial adjustment in forelimb	1
Delayed medial and lateral adjustment in forelimb	2
No medial, delayed lateral adjustment in forelimb	3
No medial or lateral adjustment in forelimb	4
No medial or lateral adjustment in forelimb, delayed or absent adjustment in hindlimb	5
<b>9. Forced movement using only forelimbs ('wheelbarrowing')</b>	
No disturbance	0
Drifting to right side	1
Animal falls down	2
Maximum score points	27