



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

**Estudo das respostas neurofisiológicas cerebrais
em sujeitos saudáveis associadas à aplicação de
estimulação magnética transcraniana repetitiva
no córtex direito**

Ricardo Pinho de Oliveira e Silva

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Prof. Doutora Maria Assunção Vaz Patto

Coorientador: Prof. Doutor Jorge Gama

Covilhã, maio de 2013

Agradecimentos

Agradeço aos meus orientadores, *Prof^a. Dra. M^a Assunção Vaz Patto* e o *Prof. Dr. Jorge Gama*, por todo o empenho, exigência, trabalho e tempo exigido nesta fase, e pela compreensão que sempre demonstraram.

Agradeço aos meus pais, *Luís António Silva* e *Ligia Maria Pinho*, por toda a formação e educação que me deram, pelos esforços realizados para me possibilitar os estudos e por sempre acreditarem em mim e no meu trabalho.

Agradeço à minha namorada, *Susana Martins*, por todo o apoio e ajuda que me deu durante estes anos.

Agradeço à minha família por toda a força, coragem e motivação que me deram durante o curso.

Ao Dr. Nuno Pinto por todo o trabalho e conhecimentos. Uma peça fundamental na execução deste projeto.

Agradeço à *Dra. Marta Duarte*, à *Helena Gonçalves* e à *Prof^a Amélia Nunes* pelas tardes passadas, pela paciência pela ajuda e trabalho.

Agradeço a todos aqueles que se disponibilizaram para participar no nosso estudo. Sem eles nada disto poderia ser realizado.

Resumo

A estimulação magnética transcraniana (EMT) é uma técnica de estimulação do córtex cerebral que permite modular a excitabilidade cortical, subsistindo controvérsia sobre o seu efeito na oximetria cerebral. Neste estudo quisemos avaliar a variação dos valores de oximetria (de forma direta) e do fluxo cerebral regional (de forma indireta), após uma única sessão de estimulação magnética de tipo excitatório, inibitório ou placebo sobre o hemisfério direito, em indivíduos jovens e saudáveis. Os testes realizaram-se em 31 voluntários, que foram aleatoriamente divididos em 3 grupos sendo cada um dos grupos submetidos a um tipo de estimulação. Foi realizada a medição da oximetria cerebral regional (OCR) antes e após a estimulação. Um grupo de controlo foi criado com 49 voluntários que não foram sujeitos ao protocolo, servindo apenas para registar os valores de OCR antes e após um intervalo de 30min. Os resultados revelaram uma diminuição significativa nos valores da oximetria do hemisfério direito no grupo que sofreu uma estimulação excitatória, situação que se verificou também no grupo placebo. No grupo que sofreu estimulação inibitória não se verificaram alterações estatisticamente significativas. Foram encontrados achados adicionais: os valores médios de oximetria mostram-se superiores, com significância estatística, no sexo masculino em comparação com o feminino, tanto nos valores antes como nos depois da estimulação e verificou-se também que o hemisfério direito apresenta valores de oximetria superiores aos do hemisfério esquerdo no grupo de controlo masculino.

Palavras-chave

Estimulação Magnética transcraniana repetitiva; Theta Burst Stimulation; Oxigenação Cerebral Regional; espectroscopia proximal por infravermelhos ; córtex pré frontal; voluntários normais

Abstract

In this study we aimed to evaluate the variation of the regional cerebral oximetry (RCO), on the prefrontal cortex, after one session of Transcranial magnetic stimulation (TMS) - excitatory Theta Burst (TBS), inhibitory TBS and sham stimulation in healthy young individuals. The tests were realized in 32 volunteers, randomly distributed by three groups, being each group submitted to one of the previously described TBS (two way blinded). The RCO was obtained before and after the TMS. A fourth group was created in order to study the normal variation of RCO, in a 30 min interval, without passing through the TBS protocol. In this study we found a significant decrease, in males, on the right prefrontal OCR of the excitatory TBS group which also was noticed on the sham group. On the inhibitory TBS group no significant changes in OCR were obtained for either males or females. Parallel findings were noticed on the fourth group: prefrontal OCR mean values were significantly superior on males than females. Also right prefrontal OCR values were superior than left ones on males, but no significant change was observed between both hemispheres in females.

Keywords

Transcranial magnetic stimulation; Theta Burst Stimulation; Regional Cerebral Oximetry; Near Infra-Red Spectroscopy; prefrontal cortex, healthy volunteers

Índice

Agradecimentos	ii
Resumo	iii
Abstract	iv
Introdução	1
Oxigenação Cerebral superficial e Fluxo Sanguíneo Cerebral Regional	1
Estimulação Magnética Transcraniana	2
EMT e oximetria cerebral	3
Objetivos	3
Metodologia de Investigação	4
Participantes	4
Instrumentos	7
Eletrocardiografia	7
Oxigenação Cerebral	7
Procedimentos	8
Ética	9
Análise Estatística	10
Resultados	11
Análise das diferenças nos valores de oximetria entre sexo feminino e masculino	13
Análise inter-hemisférica nos indivíduos por sexo	15
Análise descritiva por tipo de estimulação	16
Avaliação geral da variável oximetria por tipo de estimulação	18
Avaliação da variável oximetria em relação ao sexo dos voluntários, por tipo de estimulação	20

Discussão	31
Tipo de estimulação e valores de oximetria	31
Parâmetros Físicos.....	33
Valores de oximetria e diferenças entre sexos	33
Limitações e pontos fortes do estudo	34
Conclusão	36
Referências Bibliográficas	37
Anexos	41
I - Parecer da comissão de ética da Faculdade Ciências da Saúde.....	41
II - Parecer da comissão de ética do Centro Hospitalar Cova da Beira	42
III- Inquérito inicial aos voluntários	43
IV- Instruções preparatórias para os participantes	49
V- Inquérito do dia do estudo.....	50
VI- Consentimento Informado	51
VII - Recomendações da ESC para medição da Pressão Arterial	53
VIII - Protocolo inicial do projeto	54

Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Valores médios de oximetria esquerdos e direitos, em ambos os sexos.

Gráfico 2 - Variação dos valores de oximetria direita, no sexo feminino, consoante o tipo de estimulação.

Gráfico 3 - Variação dos valores de oximetria direita, no sexo masculino, consoante o tipo de estimulação.

Gráfico 4 - Variação dos valores de oximetria esquerda, no sexo feminino, consoante o tipo de estimulação.

Gráfico 5 - Variação dos valores de oximetria esquerda, no sexo masculino, consoante o tipo de estimulação.

Gráfico 6 - Variação dos valores de pressão arterial sistólica, consoante o tipo de estimulação.

Gráfico 7 - Variação dos valores de frequência cardíaca, consoante o tipo de estimulação.

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Testes de homogeneidade das variâncias, covariâncias e esfericidade dos grupos A, B e C.

Tabela 2 - Testes de Normalidade

Tabela 3 - Médias amostrais da oximetria cerebral regional (OCR) por sexo e momento

Tabela 4 - Diferença das médias amostrais da OCR entre sexos antes da estimulação

Tabela 5 - Comparação dos valores de oximetria inter-hemisféricos por sexo

Tabela 6 - Médias, desvios padrão e dimensões da amostra divididas por sexo, momento e tipo de estimulação

Tabela 7 - Médias, desvios padrão e dimensões da amostra, divididas por momento e tipo de estimulação

Tabela 8 - Médias amostrais da OCR direita por tipo de estimulação e momento

Tabela 9 - Médias amostrais da OCR esquerda por tipo de estimulação e momento

Tabela 10 - Diferença das médias (antes e após estimulação) da OCR direita por tipo de estimulação

Tabela 11 - Diferença das médias (antes e após estimulação) da OCR esquerda por tipo de estimulação

Tabela 12 - Médias amostrais da OCR direita por sexo, tipo de estimulação e momento

Tabela 13 - Médias amostrais da OCR esquerda por sexo, tipo de estimulação e momento

Tabela 14 - Diferença das médias amostrais (antes e após estimulação) da OCR direita por tipo de estimulação e sexo

Tabela 15 - Diferença das médias (antes e após estimulação) da OCR esquerda por tipo de estimulação e sexo

Tabela 16 - Médias amostrais das variáveis “ pressão sistólica”, “pressão diastólica” e “frequência cardíaca”, por tipo de estimulação

Tabela 17 - ANOVA de medidas repetidas das variáveis “ pressão sistólica”, “pressão diastólica” e “frequência cardíaca” analisando sem ter em conta o tipo de estimulação

Tabela 18 - ANOVA de medidas repetidas: interação entre as variáveis das variáveis “ pressão sistólica”, “pressão diastólica” e “frequência cardíaca” de acordo com o tipo de estimulação

Tabela 19 - Diferença das médias (antes-e após estimulação) da variável “pressão arterial” sistólica por tipo de estimulação

Tabela 20 - Diferença das médias (antes-e após estimulação) da variável “frequência cardíaca”

Lista de Acrónimos

AVC	Acidentes vasculares cerebrais
CPFDLD	Córtex pré-frontal dorsolateral direito
ECG	Eletrocardiograma
EMT	Estimulação Magnética Transcraniana
EMTr	Estimulação Magnética Transcraniana repetitiva
ESC	European Society of Cardiology
FC	Frequência Cardíaca
FCS	Faculdade Ciências da Saúde
FCSR	Fluxo cerebral sanguíneo regional
LMA	Limiar motor ativo
NIRS	Near Infra-Red Spectroscopy
OCR	Oxigenação cerebral regional
Pa	Pressão arterial
PaS	Pressão arterial Sistólica
PaD	Pressão arterial Diastólica
TEP	Tomografia de emissão de positrões
RM	Ressonância Magnética
RMf	Ressonância Magnética Funcional
SPECT	Tomografia computadorizada por emissão de fóton único
TBS	Theta burst
cTBS	Theta burst Contínuo
iTBS	Theta burst Intermitente
imTBS	Theta burst Intermediário

Introdução

A estimulação magnética transcraniana (EMT) tem vindo a crescer nas suas aplicações na prática clínica. O objetivo deste estudo surge assim a partir da necessidade de verificar quais os efeitos da EMT sobre a oxigenação cerebral regional (OCR) e a sua potencialidade para novos usos, visto existir pouca investigação nesta área promissora.

Oxigenação Cerebral superficial e Fluxo Sanguíneo Cerebral Regional

A oxigenação cerebral regional consiste na saturação de oxigénio nos vasos sanguíneos cerebrais de uma dada região a ser estudada. A oximetria cerebral regional é a medição da oxigenação do tecido de uma dada região cerebral. Inicialmente a oximetria cerebral era feita através da colocação de um cateter na veia jugular interna (método invasivo), esta refletindo os dados globais e não regionais da oxigenação cerebral. Com a modernização das técnicas e a metodologia atual é possível, através de um método transcutâneo, fazer essa medição de uma forma mais precisa e com a possibilidade de se obterem dados regionais. Fatores que podem alterar as medições realizadas com estes métodos mais recentes são as características anatómicas do cérebro e a medição ser maioritariamente venosa (70-75%) e menos arterial (20-25%)¹. Apesar disso a oximetria transcutânea pode ser importantíssima para detetar alterações da oxigenação cerebral em alguns locais (principalmente diminuição nos casos de acidentes vasculares cerebrais (AVC)).

Tipicamente a circulação cerebral total é de cerca de 750 ml/min, que corresponde a 15% do débito cardíaco, isto equivalendo a uma média de 50 a 54 ml/min por 100g de tecido cerebral^{2,3,4}. A circulação sanguínea regional tem influência direta na oxigenação cerebral superficial, e assim os parâmetros que a alteram vão influenciar também a oximetria. Contribuem então para a alteração no fluxo sanguíneo cerebral/oximetria regional os seguintes parâmetros: necessidades metabólicas locais; alterações no fluxo (com aumento ou diminuição da viscosidade sanguínea), dilatação dos vasos sanguíneos, perfusão cerebral (determinada pela pressão arterial) e controlo químico (dependente de dióxido de carbono, CO₂ e oxigénio, O₂). De acordo com estes parâmetros, existem 4 vias principais para controlo da oxigenação cerebral⁵:

1. Metabolismo;
2. Autorregulação da pressão vascular (diâmetro);
3. Controlo químico (pCO₂ e pO₂);

4. Controlo neurológico.

Atualmente a Tomografia computadorizada por emissão de fotão único (SPECT) é das técnicas mais utilizadas para medir o fluxo cerebral sanguíneo, mas a oximetria transcutânea parece permitir de uma forma mais económica e rápida obter resultados fidedignos localizados¹.

Estimulação Magnética Transcraniana

A estimulação magnética transcraniana é pela primeira vez aplicada por Barker em 1985, vindo assim revolucionar as técnicas de estimulação do córtex cerebral⁶. Barker baseou-se no princípio da indução eletromagnética, descoberta por Faraday em 1838, pelo qual pequenos campos magnéticos criados por uma bobine irão induzir pequenas alterações na condução eletroquímica dos neurónios subjacentes.

Dentro da EMT existem várias técnicas diferentes, aplicadas consoante os diferentes objetivos. Os principais métodos de EMT são de pulso único (EMTp) ou EMT repetitiva (EMTr)⁷. A mais amplamente usada é a primeira mas para o nosso estudo foram utilizados dois tipos de estimulação “Theta burst” (TBS), uma forma de EMTr.

Huang et al. (2005) definiram três tipos de TBS: TBS contínuo (cTBS), TBS intermitente (iTBS) e TBS intermediário (imTBS)⁸. Destes, concluíram que o cTBS diminui a efetividade das sinapses (efeito inibitório) e que o iTBS aumenta a efetividade das sinapses (efeito excitatório) comprovado mais tarde por outros autores também (Fitzgerald, Benitez, De Castella, Dalaski, Brown & Kulkarni, 2006)⁹.

As vantagens da TBS em relação a outros tipos de EMTr são os curtos períodos de estimulação do sujeito e a maior duração do efeito, que pode chegar até 60 minutos com estimulação no córtex motor primário (Huang et al., 2007; Di Lazzaro et al., 2008)¹⁰⁻¹¹, pré-motor (Koch et al., 2007; Huang & Rothwell, 2005)^{12,9}, sensorial primário (Schabrun et al., 2008)¹³ e na área visual primária (Franca, Koch, Mochizuki, Huang & Rothwell, 2006)¹⁴. Consegue-se assim um efeito mais prolongado com períodos de estimulação mais reduzidos.

Graças às suas propriedades de segurança, com poucos efeitos colaterais, a EMTr foi aprovada para uso terapêutico em indivíduos com patologia neurológica/psiquiátrica, como a depressão¹⁵⁻¹⁸. Pensa-se poder ter efeitos terapêuticos noutras patologias como a doença de Parkinson entre outras¹⁹⁻²¹.

EMT e oximetria cerebral

De um ponto de vista clínico, parece existir uma associação entre a diminuição da oxigenação cerebral e défices cognitivos, morbidade e prolongamento de hospitalizações²². Assim, algumas intervenções para aumentar a oxigenação estão a ser testadas como, por exemplo, o aumento da pressão arterial, do débito cardíaco ou do FiO_2 , e transfusão de glóbulos vermelhos, no caso do hematócrito se apresentar abaixo de 20%²³. A diminuição do fluxo cerebral sanguíneo regional (FCSR) têm sido também relacionada, em vários estudos, com sintomas de depressão (Bench et al., 1995)²⁴. O mesmo estudo, que aplicou medicação para aumentar o fluxo cerebral, nos locais onde era detetada a diminuição de fluxo sanguíneo, revelou que os sintomas da depressão melhoravam com o aumento do FCSR²⁴.

Recentemente verificou-se que a aplicação de EMTr para o tratamento da depressão tinha como responsável pelos resultados o aumento do FCSR (KITO et al.)²⁵.

Objetivos

Neste estudo queremos estudar a variação dos valores de oximetria (de forma direta) e fluxo cerebral regional (forma indireta), após uma única sessão de TBS de tipo excitatório, inibitório ou placebo sobre o hemisfério direito, em indivíduos jovens e saudáveis.

Segundo a literatura existente (sendo esta reduzida e realizada em pequenos grupos de indivíduos), esperamos obter diferenças na oximetria cerebral regional após cTBS e iTBS, sem registar alterações após TBS-placebo (Rounis et al., 2005; Strafella and Paus, 2001; A. Orosz et al. 2012)²⁶⁻²⁸.

Metodologia de Investigação

Participantes

Para o estudo foram recrutados 31 participantes voluntários entre os estudantes da Faculdade de Ciências da Saúde (FCS) da Universidade da Beira Interior e colaboradores da instituição.

Para além destes participantes foram recrutados mais 49 voluntários para obtenção de valores de controlo para o oxímetro usado no nosso estudo. Estes voluntários não foram submetidos ao protocolo de estimulação.

A recolha dos voluntários foi feita através de e-mail para os alunos e colaboradores da FCS. A todos aqueles alunos/colaboradores da FCS, que mostraram disponibilidade para participar como voluntários neste projeto, foi pedido o preenchimento de um questionário previamente elaborado e aprovado por uma equipa constituída por uma médica neurologista, e orientadora desta tese, e um técnico de neurofisiologia, colaborador neste projeto (Ver Anexo III). Este questionário serviu para selecionar a amostra desejada, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão.

Para garantir a segurança dos nossos voluntários, foram seguidas as considerações de Rossi S et al (2009)²⁹. Os efeitos adversos mais frequentemente encontrados nesta revisão foram considerados minor: leve cefaleia e/ou dor no couro cabeludo, considerados consequentes da ativação muscular e nervos cutâneos, junto à posição da bobina.

Os critérios *Major* de inclusão e exclusão então listados abaixo:

Critérios de inclusão

- Ter idade compreendida entre os 18 e os 30 anos;
- Ser Destro

Critérios de exclusão

- Ser canhoto ou ambidestro;
- Apresentar patologia crónica ou aguda do foro neurológico, psiquiátrico, cardíaco, respiratório, infeccioso e metabólico conhecida;

- Apresentar patologia neoplásica conhecida;
- Apresentar história de traumatismo crânio encefálico em qualquer idade;
- Apresentar história pessoal de uma ou mais convulsões;
- Ter próteses metálicas ou outras partículas metálicas no cérebro;
- Gravidez confirmada ou suspeição de gravidez;
- História pessoal de alcoolismo;
- Consumo de antidepressivos, neurolépticos e outras drogas que diminuam o limiar excitatório celular.

Apesar destes critérios, qualquer outra condição, ou conjunto de condições, que a equipa de investigação considerasse de risco ou duvidosa, levaria à exclusão do sujeito dos grupos de investigação.

No total foram preenchidos 102 inquéritos para os voluntários, tendo, destes, sido excluídos 30 e 72 foram aceites.

Entre os 72 aceites, os testes realizaram-se em apenas 31 voluntários (devido a problemas de marcação de horários possíveis e disponibilidade dos mesmos), que foram aleatoriamente divididos em 3 grupos, do seguinte modo:

▫ *Grupo A (excitatório)* - Estimulação excitatória iTBS no hemisfério direito - córtex pré frontal dorsolateral - contando este grupo com 10 participantes;

▫ *Grupo B (inibitório)* - Estimulação inibitória cTBS no hemisfério direito - córtex pré frontal dorsolateral - contando este grupo com 11 participantes;

▫ *Grupo C (controlo)* - Protocolo igual aos grupos anteriores, mas sem receberem qualquer tipo de estimulação, sendo colocada a bobine em posição neutra. Este grupo teve 10 participantes.

Todos os voluntários selecionados foram contactados via mensagem telefónica e correio eletrónico para agendar a marcação do dia em que seria realizado o estudo. Após o agendamento, era enviado um e-mail, com uma semana de antecedência em relação à data agendada para a realização do estudo. Anexado ao e-mail seguia uma lista de instruções a cumprir pelo voluntário, para que fosse possível obter os resultados mais precisos e para garantir um maior nível de segurança no procedimento: dormir pelo menos 7 horas na noite anterior e não ingerir café, bebidas alcoólicas ou outras substâncias tóxicas nas 24 horas que antecedessem a execução dos procedimentos, entre outras (Ver Anexo IV).

No dia dos testes, os voluntários assinavam o consentimento informado, que continha uma explicação detalhada do processo, de acordo com a declaração de Helsínquia (Ver Anexo VI), tendo sido garantido o anonimato dos participantes. Responderam também a um curto questionário para saber se tinham cumprido as instruções enviadas previamente (Ver Anexo V)

Para a criação do grupo de controlo, em sujeitos não submetidos ao protocolo de investigação, foi necessária a recruta presencial, em duas tardes no recinto da faculdade. Este grupo serviu para medir objetivamente a variação normal da HbO₂ num espaço de tempo igual ao existente no protocolo, sem que o voluntário fique sujeito ao protocolo de estimulação.

Como critérios de inclusão e exclusão seguimos os mesmos que para os grupos anteriores, acrescentando apenas:

Critérios de inclusão

- Presença obrigatória, no local, após 30 minutos da primeira observação;
- Não comer ou beber alimentos que contenham cafeína ou outras substâncias estimulantes ou bebidas alcoólicas;
- Não consumir produtos que alterem o estado mental/consciência;
- Não realizar qualquer tipo de atividade física moderada a intensa no espaço de tempo dos 30 minutos;
- Não fumar tabaco ou outras substâncias químicas.

Critérios de exclusão

- Ter participado no projeto.

□ *Grupo D (variação normal)* - os sujeitos deste grupo efetuaram unicamente duas medições da oxigenação, com um intervalo de 30 minutos entre medições, sem terem realizado qualquer fase do processo de estimulação. Este grupo contou com 49 voluntários, entre 50 selecionados, porque 1 não cumpriu os critérios e foi excluído.

Instrumentos

Todos os 31 participantes no processo de estimulação magnética foram submetidos a uma avaliação física, com avaliação de 4 parâmetros:

Medição da Pressão arterial e Frequência Cardíaca e auscultação cardíaca e pulmonar

Os participantes eram levados para uma sala isolada e sem ruído, para realização das medições da pressão arterial. No nosso caso, tendo em conta que todos os sujeitos que participaram no estudo eram destros e não tinham qualquer doença documentada, todas as medições foram feitas no membro superior esquerdo de cada participante. Desta forma duas a três medições da pressão arterial foram realizadas com intervalo de 1 a 2 minutos entre cada, deixando o participante descansar 1 a 2 minutos antes do início das medições. No final, após a obtenção dos valores, era calculada a média entre esses valores e esta era registada (tanto para a pressão arterial sistólica (PaS) como para a pressão arterial diastólica (PaD)).

Para o cálculo da pressão arterial e da frequência cardíaca, foi utilizada uma máquina de medição automática, realizada de acordo com as diretrizes em vigor da European Society of Cardiology (ESC) (Anexo VII)³⁰.

A auscultação cardíaca e pulmonar foi realizada em todos os participantes.

Eletrocardiografia

Foi usado um eletrocardiógrafo de 12 derivações (6 pré-cordiais e 6 membros) e seguimos as *guidelines* de 2010 da British Cardiovascular Society para obtenção do eletrocardiograma (ECG)³¹.

O registo eletrocardiográfico foi realizado antes e após a TBS.

Oxigenação Cerebral

No nosso estudo procedemos à medição da oxigenação cerebral com a utilização do “Nonin EQUANOX 7600”, aprovado pela FDA¹, que permite monitorizar e registar os valores misturados da oxigenação arterial e venosa, por uma tecnologia não invasiva, medida por sensores de proximidade com infravermelhos. A medição é feita pela emissão de luz infravermelha de um dos sensores e a receção da resposta noutra.

A fiabilidade deste oxímetro provém da inovação da colocação de dois emissores de infravermelhos (“near-infrared spectroscopy - NIRS), ao invés de um, como nos sensores antigos, juntamente com dois recetores. Assim, no recetor proximal é detetada a oxigenação dos tecidos extracranianos, enquanto no recetor mais distal ao emissor é detetada a oxigenação intracraniana e a extracraniana. O próprio oxímetro calcula então a diferença entre os dois sinais recebidos inferindo a oxigenação intracraniana, que é então mostrada no visor. A introdução de um segundo emissor cancela a variação dos resultados obtidos pelo tecido superficial, resultando numa medição mais precisa e consistente¹.

Assim no nosso estudo foram colocados dois sensores, um em cada hemisfério (proximal à região a ser estimulada e na região simétrica no outro hemisfério). Eram então registados, simultaneamente, os valores mostrados para cada hemisfério, a cada 30 segundos, calculando depois a média dos 4 valores para cada hemisfério (no valor total de 3 minutos). Este procedimento foi realizado antes e depois da TBS em todos os voluntários sujeitos à estimulação

Para estudar a variação normal dos valores de oxigenação cerebral transcutânea foram analisados em outubro de 2012, um total de 49 voluntários que preenchiem os requisitos acima mencionados.

Procedimentos

O início do projeto de investigação começou com a sua construção/idealização teórica em julho de 2011.

A criação dos questionários, documentos necessários para autorização da comissão de ética, requisição de material para o estudo foi realizada até ao início de setembro de 2011. Nos meses de setembro e outubro foram recrutados os voluntários, analisados os questionários e selecionados os voluntários que respeitassem os critérios estabelecidos. Entre outubro de 2011 e outubro de 2012 foram marcados e agendados os procedimentos, tendo em conta a disponibilidade da equipa e dos participantes. Cada participante foi identificado por um código e os respetivos dados obtidos foram associados a esse código, permitindo assim manter o anonimato.

O estudo foi realizado de forma duplamente cega. Nenhum dos intervenientes na avaliação física tinha conhecimento em qual dos grupos o sujeito seria incluído, no que respeita ao tipo de estimulação magnética transcraniana.

Os testes foram realizados a todos os participantes pela seguinte sequência de exames:

Auscultação Cárdio-Pulmonar - Registo de anormalidades;

Medição de Pressão arterial - Realização das 2 a 3 medições com cálculo da média;

Oximetria Cerebral transcutanea - Obtenção de 4 medições, com intervalo de 30 segundos entre medição, em ambos os hemisférios simultaneamente, calculando depois a média dos 4 valores para cada hemisfério.

A mesma sequência foi aplicada antes e após a EMTr.

Para a realização da TBS foi usado um estimulador magnético (MagVenture MagPro® G3 X100 5.0.1), com uma bobine em forma de oito (ou tipo borboleta), orientada de forma a que a indução de corrente decorresse na direção posterior-anterior²⁸. A estimulação inicial decorreu sobre a área motora primária direita, com intensidade supraliminar, de forma a identificar a região que induzisse a resposta motora mais proeminente no *abductor pollicis brevis* esquerdo (APBe), recorrendo eléctrodos de superfície. A 5 centímetros e com orientação anterior desta região, encontra-se o córtex pré-frontal dorsolateral direito (CPFDL), área onde foi realizada a TBS (Sandrini, Umilta & Rusconi, 2010)³². A intensidade de estimulação usada, expressa em percentagem da capacidade máxima do estimulador, foi definida em 80% do limiar motor ativo (LMA) - intensidade mínima capaz de provocar uma resposta motora de pelo menos 150µV em pelo menos 5 de 10 estímulos, enquanto o sujeito mantém uma contração mínima do APBe (Di Lazzaro, Pilato, Dileone, Profice, Oliviero, Mazzone, Insola, Ranieri, Tonali & Rothwell, 2008)¹¹.

A estimulação theta-burst utilizada neste protocolo consistiu em séries agrupadas de 3 pulsos a 50Hz, aplicadas de forma repetitiva com intervalos intersérie de 200ms, ou seja a 5Hz. Na estimulação excitatória (iTBS) as séries surgem em surtos com a duração de 2 segundos, intervalados por 8 segundos sem estimulação, por um período completo de estimulação que comporta 600 pulsos. Na estimulação inibitória (cTBS), as séries surgem de forma contínua a 5 Hz, comportando igualmente 600 pulsos (Huang, Edwards, Rounis, Bhatia & Rothwell, 2005)⁸. A estimulação placebo foi realizada usando a mesma bobine, sendo esta colocada num ângulo perpendicular sobre o escalpe do sujeito, dessa forma não induzindo estimulação cerebral (Sandrini et al, 2010)³².

Ética

Neste projeto de investigação houve completo respeito por todas as questões éticas, próprias de um projeto deste tipo.

Desde a assinatura do consentimento informado aplicado a todos os participantes, avisando-os de todo o procedimento, desde exames e instrumentos aplicados, técnicas e métodos, riscos possíveis de acontecer e garantia de privacidade total no tratamento e manuseamento de dados.

O protocolo do projeto (Ver Anexo VIII) foi aprovado pela Comissão de Ética do Centro Hospitalar da Cova da Beira, EPE (Anexo II) e da FC (Ver Anexo I), após submissão do mesmo a ambas.

Análise Estatística

Para a análise estatística deste projeto foi usado o programa IBM SPSS Statistics 19.

Para a análise estatística inferencial, recorreu-se a uma ANOVA de medidas repetidas. Esta análise permitiu-nos comparar as médias da oximetria antes e após estimulação sobre a influência de vários fatores (sexo e grupos de estimulação A, B e C). Sendo esta uma ANOVA paramétrica, foi necessário verificar os seus pressupostos de homogeneidade das variâncias e covariâncias, esfericidade e normalidade, usando os seguintes testes: M de Box, Levene, Mauchly e Shapiro-Wilk ou Kolmogorov-Smirnov. Para as múltiplas comparações foi utilizado o teste de Sidak.

A ANOVA e os testes de múltiplas comparações foram utilizados tendo em conta os grupos A, B e C.

Foram também comparadas as médias da oximetria entre sexos antes da estimulação para todos os grupos. Para além disso, foram comparadas, para cada sexo, os valores médios de oximetria pré e pós estimulação em todos os grupos. Para estas análises foi usado um teste t de Student para amostras emparelhadas.

Todos os testes de hipóteses foram considerados significativos sempre que o respetivo valor de prova (valor-p, p) não ultrapassasse o nível de significância de 5% e marginalmente significativos sempre que o respetivo valor de prova se encontrasse entre 5% e 7%.

Resultados

Foram então avaliados um total de 80 voluntários, 43 do sexo feminino e 37 do sexo masculino.

Nenhum dos testes realizados violou os pressupostos de homogeneidade das covariâncias e variâncias, esfericidade ou normalidade, conforme o caso (tabela 1 e 2).

Atendendo ao objetivo do estudo irá dar-se mais enfoque à medição da oximetria relatando apenas as alterações que se acharam relevantes relativamente aos vários fatores.

Para simplificar a exposição dos resultados divide-se então o estudo da oximetria tendo em conta os diferentes fatores que a podem alterar.

		Teste de Levene Valor-p	Teste M de Box Valor-p	Teste de Mauchly Valor-p
Pressão arterial Sistólica	Antes	0,758	0,700	1,000
	Após	0,374		
Pressão arterial Diastólica	Antes	0,703	0,725	1,000
	Após	0,303		
Frequência Cardíaca	Antes	0,283	0,333	1,000
	Após	0,420		
Oximetria Esquerda	Antes	0,622	0,150	1,000
	Após	0,096		
Oximetria Direita	Antes	0,609	0,899	1,000
	Após	0,710		

Tabela 2. Testes de Normalidade			
		Dimensão da amostra (n)	Kolmogorov-Smirnov ou Shapiro-Wilk Valor-p
Oximetria Esquerda Anterior	Excitatório	10	0,329
	Inibitório	11	0,663
	Placebo	10	0,853
	Controlo	49	≥0,200
Oximetria Direita Posterior	Excitatório	10	0,998
	Inibitório	11	0,752
	Placebo	10	0,876
	Controlo	49	≥0,200
Oximetria Esquerda Posterior	Excitatório	10	0,978
	Inibitório	11	0,218
	Placebo	10	0,187
	Controlo	49	0,095
Oximetria Direita Posterior	Excitatório	10	0,787
	Inibitório	11	0,577
	Placebo	10	0,715
	Controlo	49	≥0,200

Análise das diferenças nos valores de oximetria entre sexo feminino e masculino

Tabela 3. Médias amostrais da oximetria cerebral regional (OCR) por sexo e momento

	Sexo	Dimensão da amostra (n)	Média	Desvio Padrão
Oximetria Esquerda Antes	Feminino	43	68,506	0,910
	Masculino	37	72,842	0,871
Oximetria Direita Antes	Feminino	43	68,366	0,899
	Masculino	37	75,216	0,947
Oximetria Esquerda Após	Feminino	43	67,773	0,877
	Masculino	37	73,041	0,954
Oximetria Direita Após	Feminino	43	68,215	0,831
	Masculino	37	73,210	0,897

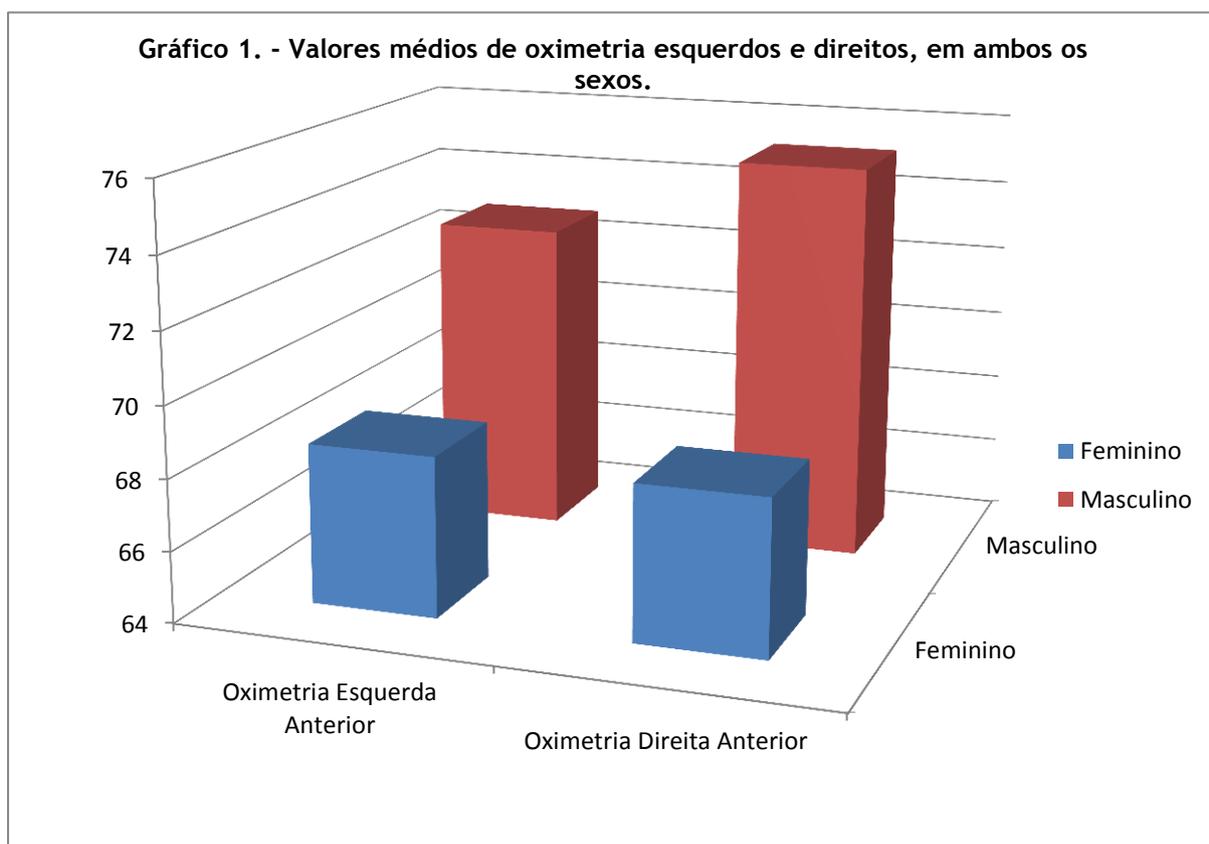
A análise descritiva e os resultados da comparação entre as médias dos dois sexos, para ambos os hemisférios e momentos encontram-se expostos nas tabelas 3.

Como se pode observar, o sexo masculino obtém valores médios superiores para ambos os hemisférios.

Assim, na tabela 4, o teste t de Student evidenciou que a média dos valores de oximetria cerebral regional se mostrou, para ambos os hemisférios e do ponto de vista estatístico, significativamente superior no sexo masculino (t-student com $p = 0,001$, para o hemisfério esquerdo, e com $p < 0,001$, para o hemisfério direito).

No gráfico 1 podemos encontrar as médias dos valores de oximetria cerebral para ambos os sexos. Como se pode observar, o sexo masculino obtêm valores médios superiores para ambos os hemisférios.

Tabela 4. Diferença das médias amostrais da OCR entre sexos antes da estimulação		
	Diferença das Médias (Feminino - Masculino)	Teste t-Student Valor-p
Oximetria Esquerda Antes	-4,336	0,001
Oximetria Direita Antes	-6,850	<0,001



Análise inter-hemisférica nos indivíduos por sexo

Seguidamente comparou-se os valores da oximetria inter-hemisféricos por sexo.

Os valores utilizados para este cálculo foram as médias amostrais para os respetivos grupos apresentadas na tabela 6.

Na tabela 5 podemos encontrar a comparação das médias dos valores de OCR entre os dois hemisférios nos dois momentos, separados para os dois sexos.

Tabela 5. Comparação dos valores de oximetria inter-hemisférios por sexo

Tipo de Estimulação	Feminino				Masculino			
	Oximetria Esquerda - Direita Antes		Oximetria Esquerda - Direita Após		Oximetria Esquerda - Direita Antes		Oximetria Esquerda - Direita Após	
	Diferença das médias	Teste t de Student Valor-p	Diferença das médias	Teste t de Student Valor-p	Diferença das médias	Teste t de Student Valor-p	Diferença das médias	Teste t de Student Valor-p
Excitatório	-1,333	0,581	-2,708	0,132	-3,125	0,191	0,875	0,821
Inibitório	-0,500	0,549	0,643	0,572	2,500	0,275	6,375	0,285
Placebo	-0,417	0,524	-0,583	0,769	-4,187	0,018	4,625	0,064
Controlo	0,833	0,212	-0,136	0,840	-2,744	0,043	-2,150	0,021

Assim, na tabela 5 podemos ver que a diferença dos valores médios de oximetria cerebral regional se mostrou significativamente superior no hemisfério direito para o sexo masculino no grupo de controlo (t-student com $p = 0,043$, para a medição antes, e com $p = 0,021$ para a medição após).

A superioridade dos valores de oximetria do hemisfério direito sobre o esquerdo no sexo masculino, mostrou-se também estatisticamente significativa na medição antes no grupo placebo (t-student com $p = 0,018$).

No sexo feminino não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para nenhum dos momentos em nenhum dos grupos.

Análise descritiva por tipo de estimulação

Na tabela 6 podemos encontrar as médias simples dos valores de oximetria para os vários momentos e de acordo com o tipo de estimulação e sexo dos voluntários.

Tabela 6. Médias, desvios padrão e dimensões da amostra divididas por sexo, momento e tipo de estimulação									
Tipo de estimulação		Sexo feminino				Sexo Masculino			
		Oximetria Esquerda Anterior	Oximetria Esquerda Posterior	Oximetria Direita Anterior	Oximetria Direita Posterior	Oximetria Esquerda Anterior	Oximetria Esquerda Posterior	Oximetria Direita Anterior	Oximetria Direita Posterior
Excitatório	Média	68,9167	66,7500	70,2500	69,4583	71,5000	71,5625	74,6250	70,6875
	Número	6	6	6	6	4	4	4	4
	Desvio Padrão	3,95179	2,79285	3,97492	5,38845	3,04822	2,18303	4,55750	7,64410
Inibitório	Média	69,6786	69,6071	70,1786	68,9643	77,6250	79,4375	75,1250	73,0625
	Número	7	7	7	7	4	4	4	4
	Desvio Padrão	5,68205	6,14725	5,39234	5,37244	2,36731	11,66972	4,06458	5,85368
Placebo	Média	72,5833	70,8333	73,0000	71,4167	70,9375	76,1250	75,1250	71,5000
	Número	6	6	6	6	4	4	4	4
	Desvio Padrão	3,80351	4,24755	4,46374	6,29815	4,36069	3,82154	2,66536	3,08896
Controlo	Média	67,0417	66,7292	66,2083	66,8854	72,5960	71,7600	75,3400	73,9100
	Número	24	24	24	24	25	25	25	25
	Desvio Padrão	6,56227	6,32710	5,98080	5,16888	5,75527	4,53486	6,64223	5,46098

Na tabela 7 podemos encontrar as médias simples dos valores de oximetria para os vários momentos e de acordo com o tipo de estimulação.

De notar que estes valores não são os utilizados para a análise estatística. As médias utilizadas para a análise são médias amostrais (marginalmente estimadas), apresentadas nas respetivas tabelas, devidamente assinaladas posteriormente.

Tabela 7. Médias, desvios padrão e dimensões da amostra, divididas por momento e tipo de estimulação					
Tipo de estimulação		Total			
		Oximetria Esquerda Anterior à rtms	Oximetria Esquerda Posterior à rtms	Oximetria Direita Anterior	Oximetria Direita Posterior
Excitatório	Média	69,950	68,675	72,000	69,950
	Número	10	10	10	10
	Desvio Padrão	3,681	3,478	4,561	6,001
Inibitório	Média	72,568	73,182	71,978	70,455
	Número	11	11	11	11
	Desvio Padrão	6,09312	9,38755	5,35076	5,64559
Placebo	Média	71,9250	72,9500	73,8500	71,4500
	Número	10	10	10	10
	Desvio Padrão	3,88560	4,72846	3,82644	5,02190
Controlo	Média	69,8755	69,2959	70,8673	70,4694
	Número	49	49	49	49
	Desvio Padrão	6,71313	5,99342	7,77635	6,34832

Avaliação geral da variável oximetria por tipo de estimulação

Na tabela 8 e 9 podemos encontrar os valores médios amostrais da oximetria cerebral regional por tipo de estimulação e momento. As tabelas correspondem respetivamente às medições no hemisfério direito e esquerdo.

Tabela 8. Médias amostrais da OCR direita por tipo de estimulação e momento			
Tipo de estimulação	Momento	Média	Desvio Padrão
Excitatória	Antes	72,438	1,423
	Depois	70,073	1,852
Inibitória	Antes	72,652	1,382
	Depois	71,013	1,799
Placebo	Antes	74,063	1,423
	Depois	71,458	1,852

Tabela 9. Médias amostrais da OCR esquerda por tipo de estimulação e momento			
Tipo de estimulação	Momento	Média	Desvio Padrão
Excitatória	Antes	70,208	1,363
	Depois	69,156	1,851
Inibitória	Antes	73,652	1,323
	Depois	74,522	1,798
Placebo	Antes	71,760	1,363
	Depois	73,479	1,851

Nas tabelas 10 e 11, podemos encontrar a diferença entre as médias amostrais da OCR para o hemisfério direito e esquerdo, respetivamente, antes e após a estimulação, descritas apenas por tipo de estimulação.

Tabela 10. Diferença das médias (antes-após) da OCR direita por tipo de estimulação		
Tipo de estimulação	Diferença das Médias	Sidak Valor-p
Excitatória	2,365	0,0240
Inibitória	1,638	0,0755
Placebo	2,604	0,0155

Encontrou-se uma diminuição estatisticamente significativa da média da oximetria do hemisfério direito no grupo A (iTBS) após a estimulação (Sidak com $p = 0,024$), sendo que essa diminuição não se mostrou significativa no grupo B (cTBS) (Sidak com $p = 0,0755$). No grupo C (placebo) também se verificou uma diminuição estatisticamente significativa do primeiro para o segundo momento registado (Sidak com $p = 0,0155$).

Tabela 11. Diferença das médias (antes-após) da OCR esquerda por tipo de estimulação		
Tipo de estimulação	Diferença das Médias	Sidak Valor-p
Excitatória	1,052	0,2685
Inibitória	-0,871	0,2995
Placebo	-1,719	0,1585

Como se pode verificar na tabela 11, não foi encontrada qualquer significância estatística nas alterações dos valores de oximetria medidos no hemisfério esquerdo.

Avaliação da variável oximetria em relação ao sexo dos voluntários, por tipo de estimulação

Nas tabelas 12 e 13, podemos encontrar as médias amostrais observadas da oximetria, antes e depois da estimulação, por grupo de estimulação e sexo. As tabelas correspondem respetivamente às medições no hemisfério direito e esquerdo

Tipo de estimulação	Sexo	Momento	Média	Desvio Padrão
Excitatória	Feminino	Antes	70,250	1,801
		Depois	69,458	2,343
	Masculino	Antes	74,625	2,205
		Depois	70,688	2,870
Inibitória	Feminino	Antes	70,179	1,667
		Depois	68,964	2,169
	Masculino	Antes	75,125	2,205
		Depois	73,062	2,870
Placebo	Feminino	Antes	73,000	1,801
		Depois	71,417	2,343
	Masculino	Antes	75,125	2,205
		Depois	71,500	2,870

Tabela 13. Médias amostrais da OCR esquerda por sexo, tipo de estimulação e momento

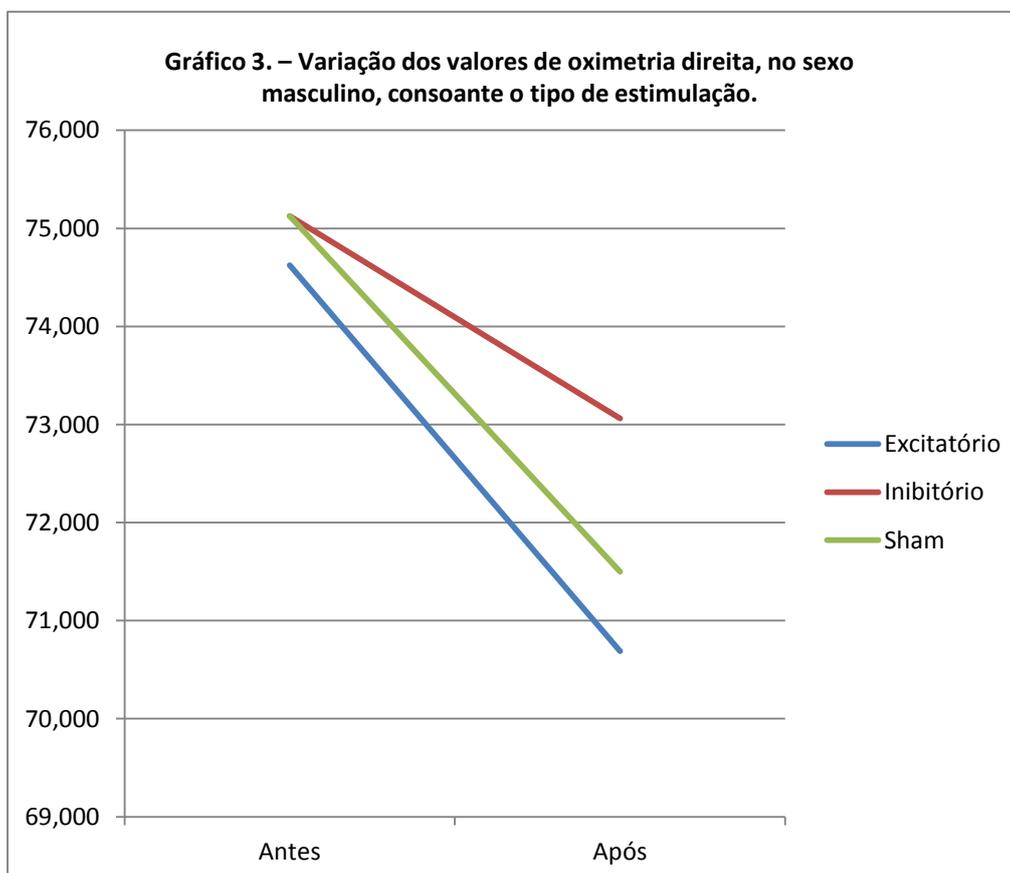
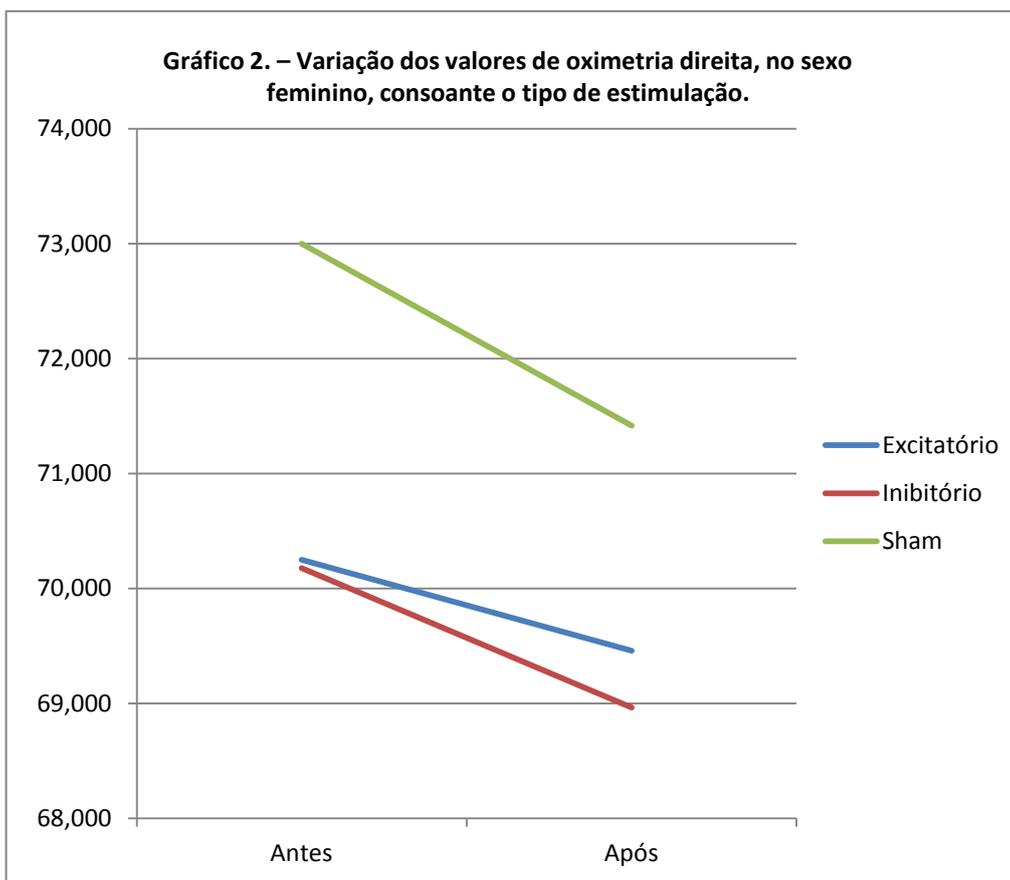
Tipo de estimulação	Sexo	Momento	Média	Desvio Padrão
Excitatória	Feminino	Antes	68,917	1,724
		Depois	66,750	2,342
	Masculino	Antes	71,500	2,112
		Depois	71,563	2,868
Inibitória	Feminino	Antes	69,679	1,596
		Depois	69,607	2,168
	Masculino	Antes	77,625	2,112
		Depois	79,437	2,868
Placebo	Feminino	Antes	72,583	1,724
		Depois	70,833	2,342
	Masculino	Antes	70,938	2,112
		Depois	76,125	2,868

Na tabela 14 podemos encontrar a diferença entre as médias amostrais da OCR para o hemisfério direito, antes e após a estimulação, discriminadas por sexo e tipo de estimulação.

Tipo de estimulação	Sexo	Diferença das Médias	Sidak Valor-p
Excitatória	Feminino	0,792	0,2940
	Masculino	3,938	0,0175
Inibitória	Feminino	1,214	0,1855
	Masculino	2,063	0,1270
Placebo	Feminino	1,583	0,1410
	Masculino	3,625	0,0255

Da análise da tabela 14, podemos constatar que quando analisado por sexos, verificamos que existe uma diminuição estatisticamente significativa da média da oximetria dos indivíduos do sexo masculino após a estimulação nos grupos A (Sidak com $p = 0,0175$) e C (Sidak com $p = 0,0255$). Para os indivíduos do sexo feminino não foram encontradas quaisquer alterações significativas.

Nos gráficos 2 e 3 podemos encontrar a variação das médias dos valores de oximetria regional cerebral direita, no sexo feminino e masculino respetivamente, antes e após da estimulação, e de acordo com o tipo de estimulação efetuada. Como se pode observar em ambos os casos a tendência é a diminuição dos valores da oximetria regional cerebral depois da estimulação. No entanto apenas os valores referentes ao sexo masculino, nos grupos A e C, são estatisticamente significativos (gráfico 3). Neste caso a diminuição dos valores relativa à estimulação inibitória (grupo B) é de grau inferior aos outros dois grupos.



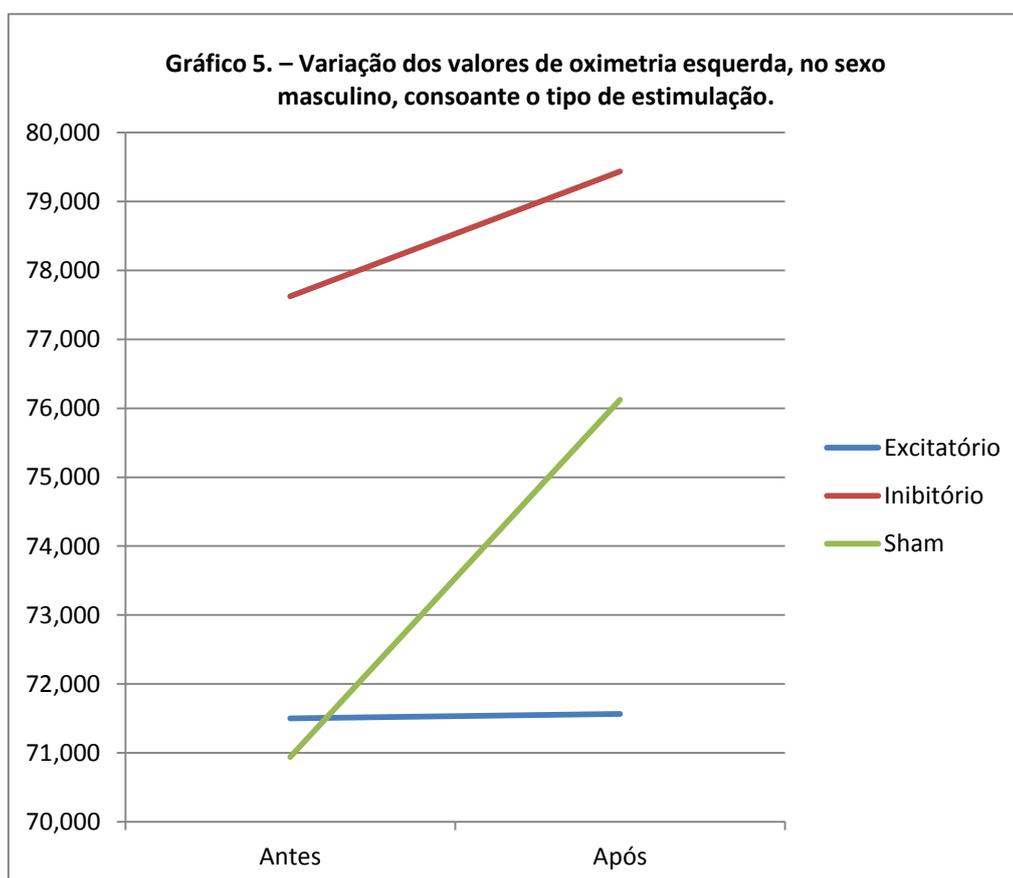
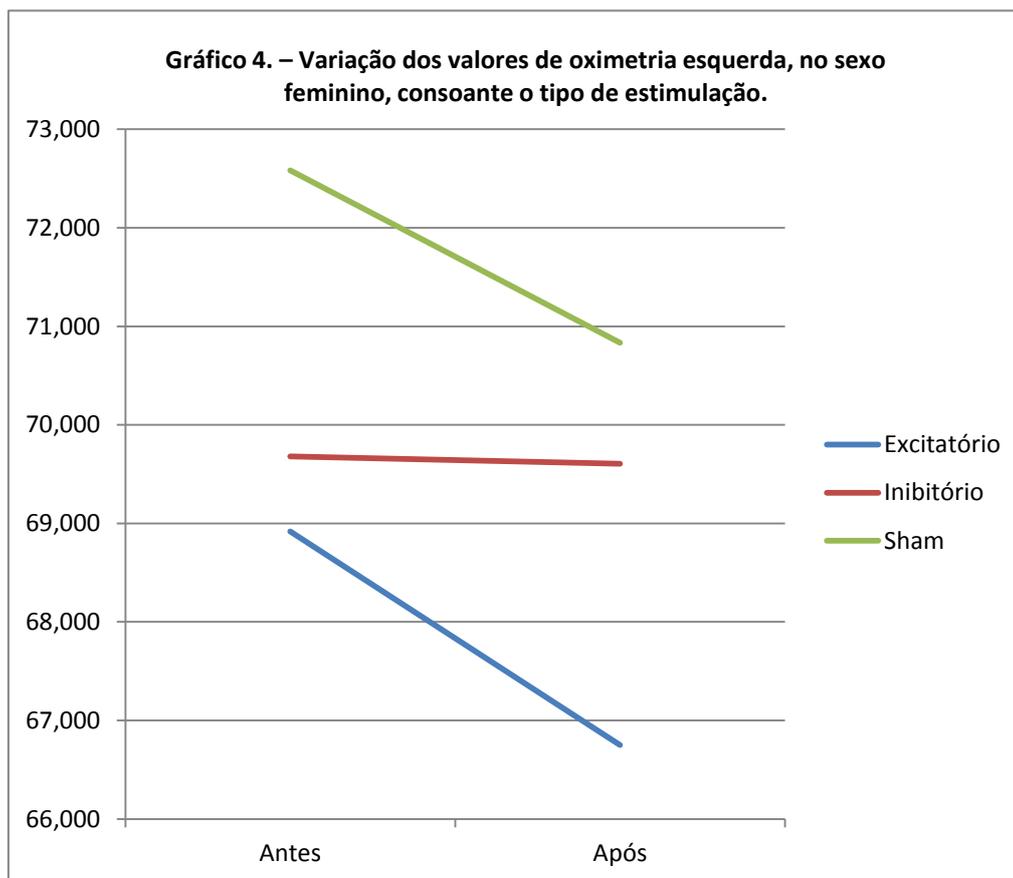
Na tabela 15 podemos encontrar a diferença entre as médias amostrais da OCR para o hemisfério esquerdo, antes e após a estimulação, descritas por sexo e tipo de estimulação.

Tabela 15. Diferença das médias (antes-após) da OCR esquerda por tipo de estimulação e sexo

Tipo de estimulação	Sexo	Diferença das Médias	Sidak Valor-p
Excitatória	Feminino	2,167	0,1590
	Masculino	-0,630	0,4905
Inibitória	Feminino	0,071	0,4855
	Masculino	-1,813	0,2465
Placebo	Feminino	1,750	0,2095
	Masculino	-5,188	0,029

Não foi encontrada qualquer significância estatística nas alterações dos valores de oximetria medidos no hemisfério esquerdo, quer para o fator “sexo” quer para o fator “tipo de estimulação”, como apresentado na tabela 15. Exceto para os voluntários do sexo masculino no grupo placebo onde se obteve, com significância estatística (sidak com $p=0,029$), uma diminuição da OCR esquerda.

No gráfico 4 e 5 podemos encontrar a variação das médias dos valores de oximetria regional cerebral esquerda, no sexo feminino e masculino respetivamente, antes e após a estimulação. Como se pode observar as variações não são concordantes nos dois sexos para os diferentes tipos de estimulação. Nestes casos nenhum dos valores encontrado é estatisticamente significativo.



Parâmetros Físicos

Na tabela 16 encontramos uma descrição estatística dos dados observados relativos às variáveis: “pressão arterial sistólica”, “pressão arterial diastólica” e “frequência cardíaca”, antes e após a estimulação.

Tabela 16. Médias amostrais da pressão sistólica, diastólica e frequência cardíaca, por tipo de estimulação.

	Tipo de estimulação	Média	Desvio Padrão
Valor da pressão sistólica Antes	Excitatório	119,6	4,069
	Inibitório	119,4	3,879
	Placebo	119,7	4,069
Valor da pressão sistólica Depois	Excitatório	123,0	4,781
	Inibitório	113,0	4,559
	Placebo	125,1	4,781
Valor da pressão diastólica Antes	Excitatório	70,9	2,408
	Inibitório	72,0	2,296
	Placebo	81,7	2,408
Valor da pressão diastólica Depois	Excitatório	73,6	2,771
	Inibitório	72,9	2,642
	Placebo	81,1	2,771
Valor da frequência cardíaca Antes	Excitatório	70,7	3,683
	Inibitório	71,5	3,512
	Placebo	78,2	3,683
Valor da frequência cardíaca Depois	Excitatório	66,8	3,817
	Inibitório	68,0	3,640
	Placebo	75,5	3,817

Na tabela 17 podemos encontrar a variação, pré e pós estimulação, das variáveis sem ter em conta o tipo de estimulação.

Tabela 17. ANOVA de medidas repetidas para as variáveis pressão sistólica, diastólica e frequência cardíaca analisando sem ter em conta o tipo de estimulação.	
Efeito	ANOVA de medidas repetidas Valor-p
Pressão arterial sistólica	0,690
Pressão arterial diastólica	0,665
Frequência Cardíaca	0,017

Assim podemos verificar que não há diferenças significativas nas variáveis “pressão arterial sistólica” e “pressão arterial diastólica”. Já quanto à variável “frequência cardíaca” encontramos uma diferença significativa. De notar que a significância encontrada para a variável “frequência cardíaca” existe, porém é perdida quando analisada por grupos de estimulação

Na tabela 18, podemos encontrar a análise que resultou da ANOVA de medidas repetidas para a interação entre as variáveis relativas aos parâmetros físicos e o tipo de estimulação.

Tabela 18. ANOVA de medidas repetidas: interação entre as variáveis “pressão sistólica”, “pressão diastólica” e “frequência cardíaca” de acordo com o tipo de estimulação.	
Efeito	ANOVA de medidas repetidas Valor-p
Pressão arterial sistólica * Tipo de estimulação	0,049
Pressão arterial diastólica * Tipo de estimulação	0,633
Frequência Cardíaca * Tipo de estimulação	0,934

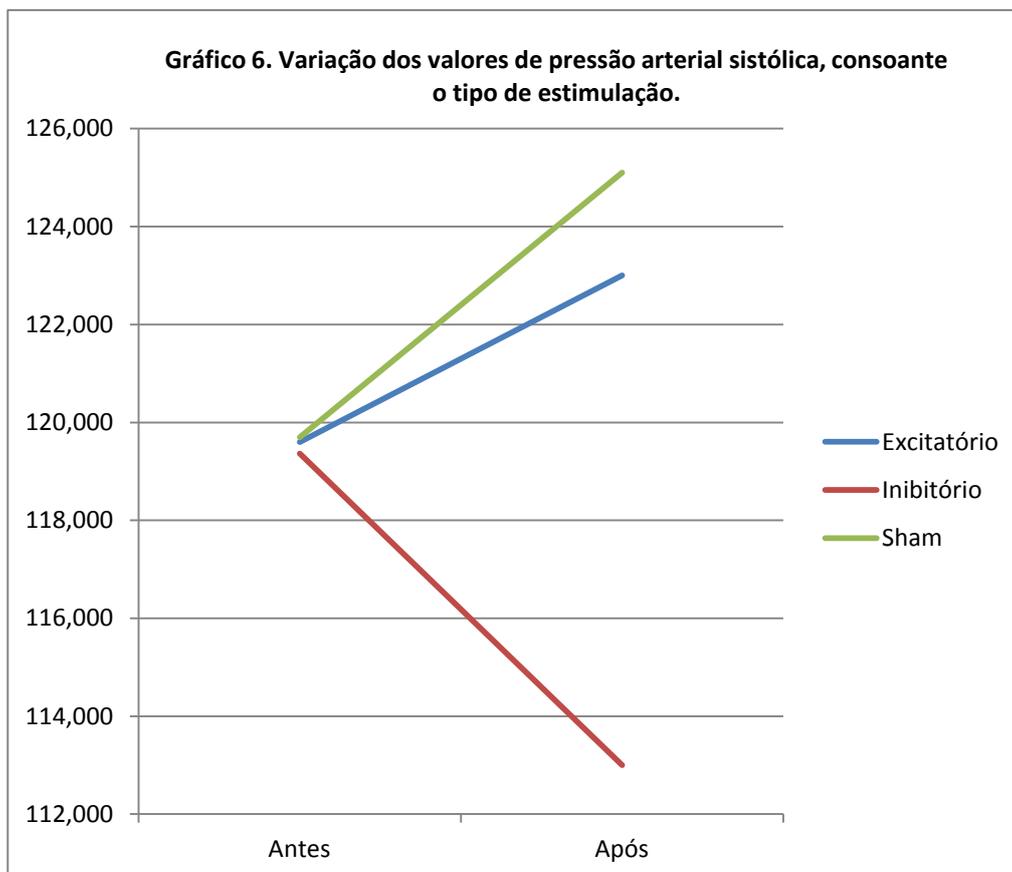
Como se pode verificar, somente existe uma interação estatisticamente significativa entre a variável “pressão arterial sistólica” e o tipo de estimulação (teste de Sidak com $p = 0,049$).

Para se perceber qual o efeito da estimulação sobre a variável “pressão arterial sistólica” e “frequência cardíaca”, utilizou-se o teste de múltiplas comparações de Sidak. Na tabela 19, podemos encontrar os resultados do teste de Sidak para a variável “pressão arterial sistólica”, comparando a variação entre os valores antes e depois da estimulação e para cada tipo de estimulação.

Tabela 19. Diferença das médias (antes e após) da pressão arterial sistólica por tipo de estimulação

Tipo de estimulação	Diferença das Médias (antes - após)	Teste de Sidak Valor-p
Excitatória	-3,400	0,173
Inibitória	+6,364	0,035
Placebo	-5,400	0,070

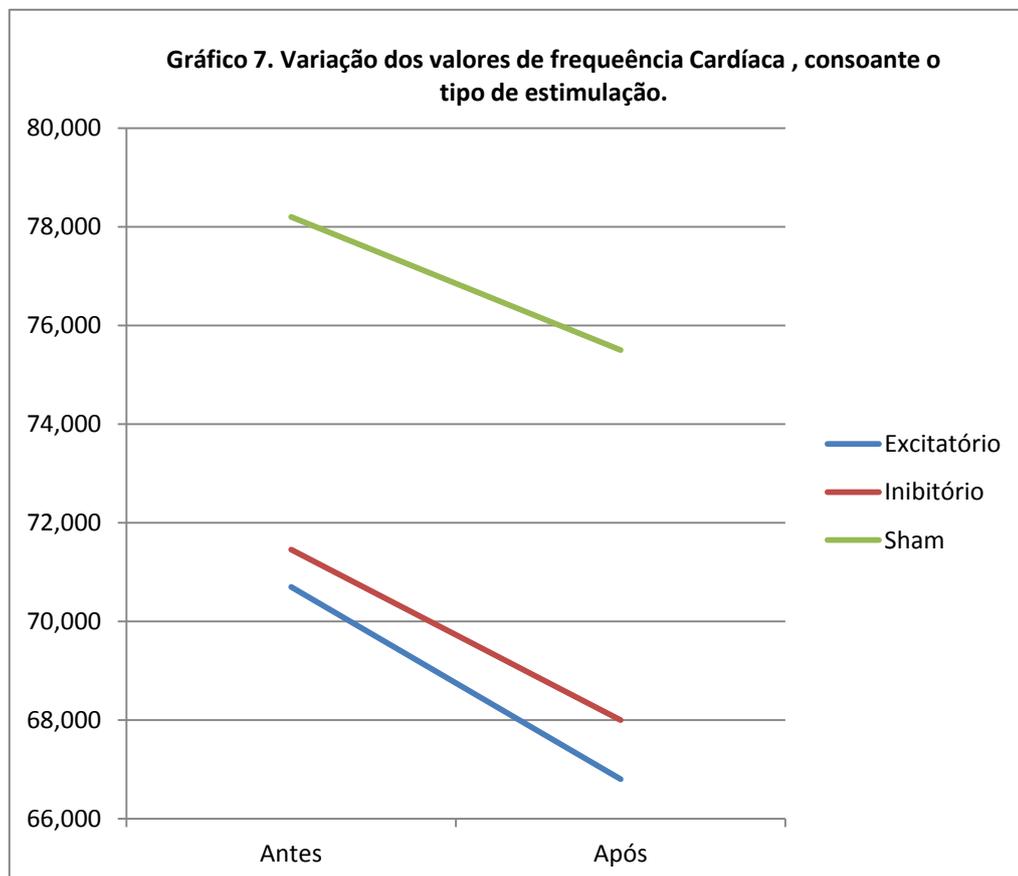
Para a estimulação excitatória e placebo não foram detetadas diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos valores da pressão arterial sistólica antes e após estimulação. Já para o grupo de estimulação inibitória, verificou-se uma diminuição estatisticamente significativa da média da pressão arterial sistólica, estimada em 6,364 mmHg. (Teste de Sidak com $p = 0,035$) (gráfico 6).



Na tabela 20 podemos encontrar o resultado do teste de Sidak para a variável “frequência cardíaca” sem ter em conta os diferentes tipos de estimulação. Como já referimos anteriormente, não existe uma interação significativa entre a frequência cardíaca e o tipo de estimulação.

Tabela 20. Diferença das médias (antes e após) da frequência cardíaca		
	Diferença das Médias (antes - depois)	Teste de Sidak Valor-p
Frequência cardíaca	+3,352	0,0085

Verifica-se assim que, em geral, existe uma diminuição estatisticamente significativa da média da frequência cardíaca (Sidak com $p = 0,0085$). No gráfico 7 verificamos que as diferenças observadas da frequência cardíaca, apesar de não serem estatisticamente significativas por tipo de estimulação, apresentam, todas, uma variação semelhante o que justifica a significância encontrada na diminuição entre os valores antes e depois encontrada na análise geral.



Discussão

Neste estudo encontrámos uma diminuição significativa nos valores da oximetria do hemisfério direito no grupo que sofreu uma estimulação excitatória, situação que se verificou também no grupo placebo. No grupo que sofreu estimulação inibitória não se verificaram alterações estatisticamente significativas. Quando discriminados por sexo, os resultados mostraram-se estatisticamente significativos para o sexo masculino nos mesmos grupos, sem se verificar o mesmo para o sexo feminino. Foi também observada uma diminuição estatisticamente significativa no sexo masculino do grupo placebo, para os valores de OCR do hemisfério esquerdo.

Em relação às diferenças entre sexos os valores médios de oximetria mostram-se superiores, com significância estatística, no sexo masculino em comparação com o feminino, tanto nos valores antes como nos depois da estimulação.

Em relação à diferença entre hemisférios encontrámos que o hemisfério direito apresenta valores de oximetria superiores ao esquerdo no grupo de controlo para o sexo masculino

Tipo de estimulação e valores de oximetria

Relativamente aos resultados obtidos para a variação dos valores da oximetria no hemisfério esquerdo, estes podem ser justificados pela característica inerente a todos os voluntários: dominância do hemisfério esquerdo (visto ser um dos critérios de seleção). Assim podemos sugerir que a estimulação do hemisfério não dominante, independente do tipo, não condiciona alterações estatisticamente significativas da vascularização regional cerebral sanguínea/valores de oximetria no hemisfério dominante. Isto pode dever-se ao facto de as conexões do hemisfério dominante predominarem sobre o não dominante, não se fazendo assim notar alterações neste último. Da diminuição, estatisticamente significativa, dos valores de OCR do hemisfério esquerdo no sexo masculino do grupo placebo, apenas consideramos um achado estatístico devido ao pequeno número de elementos (quatro) nesse grupo.

Dos restantes resultados a primeira conclusão a retirar é que parece não existir efeito nos valores de OCR após estimulação excitatória do hemisfério direito. Pela análise do gráfico 3 e da tabela 10, podemos verificar que a reação normal, sem estímulo (placebo) ao protocolo é uma diminuição da OCR do hemisfério direito. A diminuição encontrada nos grupos A e C não parece, assim, ser devida ao tipo de estimulação. Contudo nos voluntários do sexo masculino que

foram estimulados com iTBS (grupo A - excitatório), os valores de oximetria baixaram mais relativamente ao grupo placebo e já nos estimulados com cTBS (grupo B - inibitório) a diminuição foi inferior ao placebo, embora sem significância estatística.

Tupak et al, em 2011, num estudo onde analisou a variação dos valores da oximetria superficial por NRIS, utilizando apenas estimulação de tipo cTBS, no córtex pré-frontal, verificou que a aplicação deste estímulo inibitório no hemisfério esquerdo diminuiu bilateralmente os valores registados da OCR, mas quando aplicada ao hemisfério direito não foi detetado qualquer alteração³³. Resultados semelhantes a estes tinham já sido descritos por Ko et al. em 2008³⁴. Esta assimetria foi, por ambos, atribuída à dominância do hemisfério esquerdo, visto que nesses estudos apenas foi realizada a experiência em destros. Este resultado no hemisfério direito vem de encontro aos nossos achados, visto não termos encontrado alterações estatisticamente significativas com estimulação por cTBS em nenhum dos hemisférios.

Em 2007, Mochizuki et al.³⁵ encontraram diminuição da OCR no hemisfério contralateral ao estimulado com cTBS (não foram registados os valores para o lado ipsilateral). Resultados similares para a região ipsilateral foram reportados por Hulb et al. em 2008, quando aplicou cTBS, na região supraorbital frontal do olho direito, registando diminuição da oxigenação cerebral superficial ipsilateral³⁶. Este resultado vem também de encontro ao que encontramos no nosso estudo e sugere um efeito decremental na OCR da estimulação inibitória das sinapses subjacentes, embora, devido ao pequeno grupo de sujeitos avaliados não tenhamos obtido um resultado estatisticamente significativo.

Desta forma, tendo em conta o facto do hemisfério direito poder estar relacionado com o controlo do sistema nervoso autónomo³⁷ e conseqüentemente com as manifestações físicas da ansiedade, uma hipótese possível seria que a diminuição generalizada da OCR em todos os grupos pode ser devida à passagem da situação causadora de stress (neste caso a TBS), para a situação basal. Assim pensamos que a excitação do hemisfério direito possa originar uma descida mais acentuada da oximetria, facilitando o regresso à situação basal e um melhor controlo da ansiedade. Já no grupo B - inibitório o efeito de controlo pelo hemisfério direito não é tão bem conseguido, visto que em valores absolutos a diminuição de OCR encontrada é menor e sem significância estatística. Podemos pensar que o efeito inibitório da estimulação torne as transmissões interneuronais mais lentas ou diminuídas fazendo com que o processo de ansiedade se resolva mais lentamente.

Lori-Ann Tusca et al., num estudo onde mediram as diferenças de oximetria, em 2 grupos de alta ansiedade e baixa ansiedade (utilizando uma escala de rastreio de ansiedade), enquanto estes faziam um discurso, encontrou valores superiores mas não estatisticamente significativos, no hemisfério direito no grupo de alta ansiedade quando comparado ao de baixa ansiedade.³⁸ Como não apresentámos escalas de ansiedade no nosso grupo, podemos apenas sugerir que os valores encontrados tenham origem nesta situação

Parâmetros Físicos

Em nenhuma das variáveis estudadas se verificou alterações para valores patológicos, nem nenhum dos voluntários reportou algum tipo de sintomatologia relevante durante o protocolo. Podendo desta forma reafirmar que o método e técnica aplicados são seguros.

No entanto ocorreram dois achados ocasionais: a redução da PAS nos voluntários estimulados com cTBS no hemisfério direito, estatisticamente significativa e estimada em cerca de 6,364 mmHg e a diminuição da frequência cardíaca no geral dos 3 grupos. Nenhum resultado semelhante foi encontrado na bibliografia, nem existe algum estudo que tenha mostrado o oposto. Pensamos que ambas as situações sejam devido à diminuição da ansiedade já discutida em cima. No caso da diminuição da pressão arterial sistólica podemos sugerir que a inibição do hemisfério direito, que está ligado ao controlo do sistema nervoso autónomo³⁷ possa alterar o controle do SNA causando uma diminuição da PAS. Já para a frequência cardíaca sugere-se que a diminuição seja também devida à diminuição da ansiedade (já que não tem alterações estatisticamente significativas quando analisada por grupos) visto a frequência cardíaca e a ansiedade/stress estarem positivamente relacionados.

Valores de oximetria e diferenças entre sexos

Poucos estudos foram encontrados sobre variação da oximetria por fatores físicos/inerentes aos sujeitos. Existe escassa pesquisa sobre os fatores físicos que podem influenciar a oximetria cerebral. Kishi et al., não encontrou diferenças significativas entre peso, altura e perímetro cefálico³⁹. No entanto, e contrariamente ao nosso estudo, encontrou valores similares entre sexos³⁹. Encontrou também uma correlação negativa em relação à idade, que não pôde ser avaliada neste estudo visto a idade de recruta dos voluntários ter um intervalo fixo³⁹. De resalvar que a metodologia e material usados eram diferentes dos nossos. Pei-Yi Lin et al., relataram em recém-nascidos maiores valores de OCR no sexo masculino do que no feminino, vindo de encontro aos nossos achados.⁴⁰

Relativamente às diferenças inter-hemisféricas intraindividuais, escassas referências bibliográficas foram encontradas. Kovalec et al. relataram assimetrias na anatomia cerebral, por ressonância magnética (RM), mais pronunciadas nos homens do que nas mulheres em todas as áreas cerebrais. No mesmo sentido Yucel et al., verificaram que os homens apresentam o hemisfério direito com volume superior do que o esquerdo, enquanto que as mulheres apresentam maior simetria⁴¹. Chiu et al. 1980 e Kennedy et al. 1999 referem também assimetrias inter-hemisféricas, com maior volume do lobo frontal direito e do lobo occipital esquerdo comparativamente com os lobos contralaterais. No entanto, nenhuma relação foi estabelecida em termos de OCR⁴²⁻⁴³. Pei-Yi Lin et al. encontraram no estudo referido anteriormente uma assimetria direita esquerda nos valores de OCR, mais elevados nos recém-nascidos do sexo masculino⁴⁰.

Limitações e pontos fortes do estudo

A técnica e materiais aplicados no estudo foram selecionados pela fiabilidade comprovada e pela melhor precisão na obtenção de resultados. No entanto e tendo em conta a comparação com outros estudos temos de ter em conta a diferença no método aplicado e no material usado.

A discrepância entre resultados observada entre este estudo e em outros pode ser atribuída a vários fatores:

- A diferença entre aparelhos de EMT e protocolos de aplicação (significativamente diferentes entre os vários estudos na bibliografia);
- O tempo entre a medição antes e após da EMT devido à extensão do protocolo e medidas de segurança;
- A diferença entre aparelhos de oximetria;
- A diferentes fatores anatómicos e/ou inerentes entre indivíduos, que não nos garante estimulação focalizada nas mesmas regiões anatómicas em todos os voluntários, nem garante os mesmos valores base;
- Pequenas dimensões dos grupos, que pode ter limitado alguma análise estatística.

Neste estudo também não foi possível estabelecer interconexões entre as várias regiões do cérebro, que apenas nos permitiu a medição dos valores de oximetria na região do córtex frontal, bilateralmente, não sendo avaliadas outras regiões cerebrais.

No entanto este estudo foi realizado tendo em conta a pouca bibliografia existente na área e da ainda mais escassa informação sobre o hemisfério direito e estudos sobre ele. É um estudo pioneiro quer nos instrumentos utilizados, quer na metodologia, dado que ao contrário de vários estudos prévios, foram utilizados dois tipos antagónicos de estimulação nos grupos estimulados, recorrendo ainda a um grupo placebo e um grupo de controlo.

É assim um estudo que pode abrir caminhos a novas investigações e descobrir o potencial fisiológico do hemisfério direito.

Conclusão

A TBS cerebral aplicada no hemisfério direito não revelou alterações absolutas em relação ao grupo placebo neste estudo, embora se registem respostas diferentes ao tipo de estimulação na oximetria no hemisfério direito, sobretudo nos homens.

A segurança do método foi confirmada no estudo, visto nenhuma intercorrência ter acontecido.

Foi evidenciado que a oximetria cerebral do sexo masculino têm valores absolutos mais elevados que a do sexo feminino. Também foi verificado que o sexo masculino tem valores de oximetria superiores no hemisfério direito quando comparado ao esquerdo, no grupo de controlo.

A diminuição da PAS, com aplicação de cTBS, estatisticamente significativa, pode ter alguma relevância clínica visto a diferença de valores estar na ordem dos 7mmHg. Propõem-se assim novos estudos que deem enfoque às alterações na ansiedade (estudo de alterações nos neurotransmissores após ETMr, modificações na sinalização do sistema nervoso autónomo), para perceber melhor até que ponto a técnica pode ser aplicada na terapêutica (fiabilidade/custo e comparação com terapias já existentes) na patologia de ansiedade e também eventualmente no tratamento de hipertensão essencial (visto se ter mostrado segura).

Propõem-se também outros estudos relativos à importância do hemisfério direito no sexo masculino devido à diferença encontrada nos valores de oximetria (porque existirá esta diferença nos homens e porque não foi evidenciada nas mulheres).

Referências Bibliográficas

1. Elizabeth A.M. Frost MD et al., Cerebral Oximetry, **Emerging Applications for an established technology**, Anesthesiology news 2012;
2. Orlando Regional Healthcare, Education and Development, **Overview of Adult Traumatic Brain Injuries**, 2004;
3. Walters, FJM, **Intracranial Pressure and Cerebral Blood Flow**. Physiology Issue 8, Article 4, 1998;
4. Shepherd S. **Head Trauma**. Emedicine.com, 2004;
5. Kandel E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M. **Principles of Neural Science**, 4th ed., McGraw-Hill, New York, 2000;
6. Barker AT, Jalinous R, Freeston IL: **Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex**, Lancet 1985;
7. Adriana B. Conforto¹, Suely K.N. Marie², Leonardo G. Cohen³, Milberto Scaff, **Estimulação magnética transcraniana**, Arq Neuropsiquiatr 2003;
8. Huang et al, **Theta Burst Stimulation Report of the Human Motor Cortex**, Neuron, 2005;
9. Fitzgerald PB, Benitez J, de Castella AR, Brown TL, Daskalakis ZJ, Kulkarni J., **Naturalistic study of the use of transcranial magnetic stimulation in the treatment of depressive relapse**. 2006;
10. Huang Y-Z, Chen R-S, Rothwell JC & Wen H-Y, **The after effect of human theta burst stimulation is NMDA receptor dependent**, 2007;
11. V. Di Lazzaro, F. Pilato, M. Dileone, P. Profice, A. Oliviero, P. Mazzone, A. Insola, F. Ranieri¹, M. Meglio, P. A. Tonali and J. C. Rothwell, **The physiological basis of the effects of intermittent theta burst stimulation of the human motor cortex**, J Physiol 2008;
12. Koch G, Franca M, Mochizuki H, Marconi B, Caltagirone C, Rothwell JC., **Interactions between pairs of transcranial magnetic stimuli over the human left dorsal premotor cortex differ from those seen in primary motor cortex**, J Physiol. 2007;
13. Schabrun SM, Ridding MC, Miles TS., **Role of the primary motor and sensory cortex in precision grasping: a transcranial magnetic stimulation study**, Eur J Neurosci. 2008;
14. Franca M, Koch G, Mochizuki H, Huang YZ, Rothwell JC., **Effects of theta burst stimulation protocols on phosphene threshold**. Clin Neurophysiol, 2006;
15. Fitzgerald PB, Brown TL, Marston NA, et al: **Transcranial magnetic stimulation in the treatment of depression: a double-blind, placebo-controlled trial**. Arch Gen Psychiatry 2003;

16. Grunhaus L, Schreiber S, Dolberg OT, et al: **A randomized controlled comparison of electroconvulsive therapy and repetitive transcranial magnetic stimulation in severe and resistant nonpsychotic major depression.** *Biol Psychiatry* 2003;
17. Avery DH, Holtzheimer PE III, Fawaz W, et al: **A controlled study of repetitive transcranial magnetic stimulation in medication-resistant major depression.** *Biol Psychiatry* 2006;
18. Gershon AA, Dannon PN, Grunhaus L: **Transcranial magnetic stimulation in the treatment of depression,** *AmJ Psychiatry* 2003;
19. Pascual-Leone A, Valls-Solé J, Brasil-Neto JP, Cammarota A, Grafman J, Hallett M. **Akinesia in Parkinson's disease, II: effects of subthreshold repetitive transcranial motor cortex stimulation,** *Neurology* 1994;
20. Mally J, Stone TW. **Improvement in Parkinsonian symptoms after repetitive transcranial magnetic stimulation.** *J Neurol Sci* 1999;
21. Siebner HR, Mentschel C, Auer C, Conrad B. **Repetitive transcranial magnetic stimulation has a beneficial effect on bradykinesia in Parkinson's disease.** *Neuroreport* 1999;
22. Slater JP, Guarino T, Stack J, et al. **Cerebral oxygen desaturation predicts cognitive decline and longer hospital stay after cardiac surgery.** *Ann Thorac Surg* 2009;
23. Christopher A. Troianos, MD, **Cerebral Oximetry May Provide Helpful Information,** *The Official Journal of the Anesthesia Patient Safety Foundation* 2009;
24. Bench CJ, Frackowiak RS, Dolan RJ: **Changes in regional cerebral blood flow on recovery from depression.** *Psychol Med* 1995;
25. Kito S., **Treatment of depression using transcranial stimulation (TMS) and neuroimaging,** *Seishin Shinkeigaku Zasshi*, 2012;
26. Ishikawa S, Matsunaga K, Nakanishi R, Kawahira K, Murayama N, Tsuji S, Huang YZ, Rothwell JC, **Effect of theta burst stimulation over the human sensorimotor cortex on motor and somatosensory evoked potentials.** *Clin Neurophysiol.* 2007;
27. Strafella AP, Paus T. **Cerebral blood-flow changes induced by paired-pulse transcranial magnetic stimulation of the primary motor cortex.** *J Neurophysiol.* 2001;
28. Orosz A, Jann K, Wirth M, Wiest R, Dierks T, Federspiel A., **Theta burst TMS increases cerebral blood flow in the primary motor cortex during motor performance as assessed by arterial spin labeling (ASL).** *Neuroimage.* 2012;
29. Simone Rossi, Mark Hallett, Paolo M. Rossini, Alvaro Pascual-Leone and The Safety of TMS Consensus, **Group Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research,** *Clinical Neurophysiology* 2009;

30. European Society of Cardiology - **2007 Guidelines for the management of arterial hypertension**, 2007;
31. British Cardiovascular Society, **Recording a standard 12-lead electrocardiogram “An approved Methodology 2010**;
32. Sandrini M, Umiltà C, Rusconi E., **The use of transcranial magnetic stimulation in cognitive neuroscience: a new synthesis of methodological issues**. Neurosci Biobehav Rev. 2011;
33. Sara V. Tupak, Thomas Dresler, Meike Badewien, Tim Hahn, Lena H. Ernst, Martin J. Herrmann, Jurgen Deckert, Ann-Christine Ehlis, and Andreas J. Fallgatter, **Inhibitory Transcranial Magnetic Theta Burst Stimulation Attenuates Prefrontal Cortex Oxygenation**, Hum Brain Mapp, 2011;
34. Ko JH, Monchi O, Ptito A, Bloomfield P, Houle S, Strafella AP: **Theta burst stimulation-induced inhibition of dorsolateral prefrontal cortex reveals hemispheric asymmetry in striatal dopamine release during a set-shifting task—a TMS-craclopride PET study**. Eur J Neurosci, 2008;
35. Mochizuki H, Furubayashi T, Hanajima R, Terao Y, Mizuno Y, Okabe S, Ugawa Y: **Hemoglobin concentration changes in the contralateral hemisphere during and after theta burst stimulation of the human sensorimotor cortices**, Exp Brain Res, 2007;
36. Hubl D, Nyffeler T, Wurtz P, Chaves S, Pflugshaupt T, Luthi M, von Wartburg R, Wiest R, Dierks T, Strik WK, et al.: **Time course of blood oxygenation level-dependent signal response after theta burst transcranial magnetic stimulation of the frontal eye field**. Neuroscience 2008;
37. S A Barron, Z Rogovski and J Hemli, **Autonomic consequences of cerebral hemisphere infarction**, Stroke 1994;
38. Lori-Ann Tuscan & James D. Herbert & Evan M. Forman & Adrienne S. Juarascio & Meltem Izzetoglu & Maria Schultheis, **Exploring frontal asymmetry using functional near-infrared spectroscopy: a preliminary study of the effects of social anxiety during interaction and performance tasks**, Springer Science+Business Media New York 2012
39. Kishi K, Kawaguchi M, Yoshitani K, Nagahata T, Furuya H. **Influence of patient variables and sensor location on regional cerebral oxygen saturation measured by INVOS 4100 near-infrared spectrophotometers**. J Neurosurg Anesthesiol. 2003;
40. Pei-Yi Lin, Nadège Roche-Labarbe, Mathieu Dehaes, Angela Fenoglio, P. Ellen Grant and Maria Angela Franceschini **Regional and Hemispheric Asymmetries of Cerebral Hemodynamic and Oxygen Metabolism in Newborns**, Cereb Cortex 2012;
41. Yucel, M., Stuart, G.W., Maruff, P., Velakoulis, D., Crowe, S.F., Savage, G., Pantelis, C., **Hemispheric and gender-related differences in the gross morphology of the**

anterior Cingulate/paracingulate cortex in normal volunteers: an MRI morphometric study, *Cereb. Cortex* 2001;

42. Chiu, H.C., Damasio, A.R., **Human cerebral asymmetries evaluated by computed tomography**. *J Neurol. Neurosurg. Psychol*, 1980;
43. Kennedy, D.N., O'Craven, K.M., Ticho, B.S., Goldstein, A.M., Makris, N., Henson, J.W., **Structural and functional brain asymmetries in human situs inversus totalis**, *Neurology* 1999;

Anexos

I - Parecer da comissão de ética da Faculdade Ciências da Saúde



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PARECER

Processo: CE-FCS-2011-001

Data entrega processo: 30/08/2011

Data conclusão processo: 13/12/2011

Tema Projecto/Proponente: *“Estudo das respostas neuropsicológicas e neurofisiológicas cerebrais, em sujeitos normais, associadas à aplicação de campos magnéticos cerebrais”* –
Profª. Doutora Maria Assunção Vaz Patto

Exma. Sra. Presidente da Faculdade de Ciências da Saúde

Apreciado o pedido referente ao processo acima mencionado esta Comissão não detectou matéria que ofenda os princípios éticos.

Covilhã, 11 Janeiro 2012

O Presidente da Comissão de Ética
Prof. Doutor José Martinez de Oliveira

O Vice-Presidente da Comissão de Ética
Prof. Doutor Joaquim Viana

II - Parecer da comissão de ética do Centro Hospitalar Cova da Beira

PARECER N.º 30/2011 DA COMISSÃO DE ÉTICA DO

CENTRO HOSPITALAR DA COVA DA BEIRA, EPE

Na sua reunião de 29 de Junho de 2011, esta Comissão de Ética apreciou o pedido de autorização para a realização de um projecto de investigação subordinado ao tema "Estudo das respostas neuropsicológicas e neurofisiológicas cerebrais em sujeitos normais associadas à aplicação de campos magnéticos cerebrais", a realizar na Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, por Maria Assunção Vaz Patto.

Apreciado o projecto, concluiu esta Comissão de Ética nada ter a opor à realização do mesmo.

Covilhã, 29 de Junho de 2011

O Vice-Presidente da Comissão de Ética



(Dr. Manuel Morgado)

III- Inquérito inicial aos voluntários

NOME: _____

DATA DE NASCIMENTO: ___/___/_____

NATURALIDADE: _____

BI / CARTÃO DE CIDADÃO: _____

CÓDIGO: _____

A informação cedida neste documento é para uso exclusivo do projeto, e todas as respostas dadas serão mantidas em extrema confidencialidade e só serão ligadas ao nome da pessoa em casos de dúvida ou esclarecimento de alguns parâmetros.

CÓDIGO _____

Data de nascimento _____

Sexo: Feminino Masculino

Profissão _____

Escolaridade _____

1. Já lhe foi diagnosticada algum tipo de doença?

Sim Não

Em caso de resposta afirmativa indique qual(ais): _____

2. Alguma vez sofreu de algum destes sintomas (preencha em caso afirmativo)?

Síncope Disestesias

Palpitações

Parestesias

Tonturas

Alterações da visão

Alterações da fala

Cefaleias

Convulsões ou outras crises epilépticas

Alt. da força

Acufenos/zumbidos/problemas auditivos

Outro(s) _____

Se preencheu algum parâmetro nos pontos 1 e 2, por favor responda às seguintes questões, especificando qual dos sintomas a que se refere:

Em que circunstâncias ocorreu o episódio? _____

Quanto tempo decorreu desde a última sintomatologia? _____

Com que frequência (diário/semanal/mensal/ anual)? _____

Quanto tempo costumam durar os episódios? _____

Já consultou um médico, pelas condições acima referidas?

Sim

Não

Em caso de resposta afirmativa:

Qual o diagnóstico final? _____

3. Sofre de alguma patologia cardíaca?

Sim

Não

Em caso de resposta afirmativa:

Qual? _____

4. Sofre de alguma patologia respiratória?

Sim

Não

Em caso de resposta afirmativa:

Qual? _____

5. Sofre de alguma patologia neurológica / psiquiátrica?

Sim Não

Em caso de resposta afirmativa:

Qual? _____

6. Já teve algum episódio de traumatismo craniano?

Sim Não

Em caso de resposta afirmativa:

Quando? _____

Em que circunstância? _____

Existiram complicações após o traumatismo? _____

Em caso de resposta afirmativa:

O que lhe foi diagnosticado? _____

Continua a ser acompanhado(a) por algum médico? _____

6. Já alguma vez foi submetido a alguma cirurgia?

Sim Não

Em caso de resposta afirmativa:

Qual foi a causa? _____

Surgiu algum tipo de complicações durante o processo (pré, durante e pós cirurgia)?

Sim Não

Em caso de resposta afirmativa:

Qual (ais)? _____

Faz, atualmente, alguma medicação?

Não

Sim Qual? _____ Causa: _____

Qual? _____ Causa: _____

Qual? _____ Causa: _____

7. Quanto aos seus hábitos

Na última semana, em média, quantas horas dormiu por noite?

>8h

8h a 7h

6h a 5h

5h a 4h

<4h

Na última semana, em média, quantos dias saiu à noite?

0

1 a 2

3 a 4

5 a 6

7

Consome álcool?

Não consumo álcool

Sim

Em caso afirmativo responda aos dois pontos abaixo,

Diariamente

Semanalmente

Ocasionalmente

O que consome/consumiu e em que quantidades. _____

Consome drogas?

Não consumo drogas

Sim

Em caso afirmativo responda aos dois pontos abaixo,

Diariamente

Semanalmente

Ocasionalmente

O que consome/consumiu e em que quantidades _____

Tem algum tipo de prótese metálica? (no cérebro, implantes cocleares, neuroestimulador, pace-maker ou linhas cardíacas, aparelho de infusão de medicação).

Sim

Não

Em caso de resposta afirmativa:

Onde? _____

Tem alguma derivação ventricular ou medular?

Sim

Não

Usa aparelho dentário?

Sim

Não

Usa piercings?

Sim

Não

Em caso de resposta afirmativa:

Onde? _____

Está grávida ou tem possibilidade de estar grávida?

Sim

Não

Tem-se sentido deprimido(a), em baixo, sem motivação, nas últimas duas semanas?

Sim

Não

Outro _____

Já fez RMN-CE ou medular alguma vez?

Sim Não

Já fez ETM alguma vez?

Sim Não

Covilhã, _____ / _____ / _____

(Assinatura do Voluntário)

(Assinatura do Responsável)

IV- Instruções preparatórias para os participantes

Caro participante, de forma a garantir os resultados mais fidedignos na investigação em curso, pede-se que na véspera da sua participação sigas as seguintes instruções:

- Dormir cerca de 7 horas (ou horas habituais de acordo com a sua necessidade de descanso).
- Não beber chá, café ou outras bebidas que contenham substâncias estimulantes (cafeína, teína, taurina, entre outras) nas 12h prévias à realização dos exames.
- Não consumir álcool nas 24 horas anteriores aos exames.
- No dia do exame, lavar o cabelo e não aplicar laca, gel ou espuma no cabelo.
- Não comer até aproximadamente 3h antes dos testes, se estiver disponível para doar saliva para análise.

Pedimos a sua melhor compreensão para estas instruções para que se encontre na melhor “forma cerebral” possível durante os exames a realizar.

Obrigado pela sua ajuda.

Os melhores cumprimentos,

A equipa de investigação

V- Inquérito do dia do estudo

Código__

1. Quantas horas dormiu na noite passada ?

2. Na última semana, em média, quantas horas dormiu por noite?

> 8h ___ 8 a 7h ___

6 a 5h ___ 5 a 4h ___ < 4h__

3. Na última semana, em média, quantas vezes saiu á noite?

0 ___

1 a 2 ___

3 a 4 ___

5 a 6 ___

7 ___

4. Consumiu álcool nas últimas 24horas?

Sim ___ Não ___

5. Consumiu chá, café ou outras bebidas que conhetam substâncias estimulantes (cafeina, teína, taurina, entre outras) nas últimas 12horas?

Sim ___ Não ___

VI- Consentimento Informado

O voluntário Sr./Sra. _____
_____ natural de _____, com residência em _____,
cidade de _____, distrito de _____, de nacionalidade _____ nascido a
___/___/_____, foi DETALHADAMENTE INFORMADO SOBRE o projeto de que vai fazer parte, que
de forma resumida consiste na criação de 5 grupos de voluntários escolhidos aleatoriamente que
serão testados antes da aplicação de Estimulação Magnética Transcraniana (ETMr) com testes
neuropsicológicos e neurofisiológicos.

No grupo I, um ciclo excitatório de curta duração dirigido ao hemisfério esquerdo será realizado e os testes neuropsicológicos e neurofisiológicos são repetidos num período inferior a 45 minutos.

No grupo II, um ciclo excitatório de curta duração dirigido ao hemisfério direito será realizado e os testes neuropsicológicos e neurofisiológicos são repetidos num período inferior a 45 minutos.

No grupo III, um ciclo placebo de curta duração será realizado e os testes neuropsicológicos e neurofisiológicos são repetidos num período inferior a 45 minutos.

No grupo IV, um ciclo inibitório de curta duração dirigido ao hemisfério direito será realizado e os testes neuropsicológicos e neurofisiológicos são repetidos num período inferior a 45 minutos.

No grupo V, um ciclo inibitório de curta duração dirigido ao hemisfério esquerdo será realizado e os testes neuropsicológicos e neurofisiológicos são repetidos num período inferior a 45 minutos.

Todo o protocolo de testes terá uma duração total inferior a 90 minutos.

O voluntário foi informado sobre os riscos e possíveis efeitos secundários INERENTES à técnica aplicada e explicada, que são os seguintes (de acordo com as guidelines do último consensus de segurança em EMT - Rossi et al, 2009):

- convulsões - evento possível mas muito raro (apenas 1 caso reportado desde 2005, num sujeito com privação de sono e estimulação com intensidade superior ao protocolado).
- síncope - evento possível mas como epifenómeno - não resultante do efeito da rEMT.
- algum ruído junto do ouvido na altura da aplicação dos pulsos magnéticos e que alguns

sujeitos podem achar desagradável.

- desconforto local transitório (escalpe, face ou pescoço).
- ocasional cefaleia transitória.
- ocasionais parestesias de curta duração no hemisfério contralateral e dependendo do local de estimulação.
- possível e transitório compromisso da memória de trabalho.

Foi informado sobre a necessidade de colocar cartões magnéticos, telemóveis e relógios digitais e joias fora do laboratório de investigação.

Declara não fazer parte de nenhum grupo de risco de acordo com as informações referidas no inquérito.

Declara não usar, publicar nem de outra forma revelar, pessoalmente ou por interposta pessoa, quaisquer informações ou documentos direta ou indiretamente ligados à investigação em causa.

Com tudo isto e tendo o direito à liberdade de todos os cidadãos, o voluntário entende e aceita os anteriores pontos, de forma a assinar o presente CONSENTIMENTO INFORMADO de livre e espontânea vontade, sem receber qualquer benefício em troca.

Covilhã, / /

(Assinatura do Voluntário)

(Assinatura do Responsável)

VII - Recomendações da ESC para medição da Pressão Arterial

A pressão arterial é caracterizada por variações diárias espontâneas, mas também varia por meses e estações do ano. Idealmente, e segundo a European Society of Cardiology (ESC), a medição ideal da pressão arterial deveria ser calculada por múltiplas medições em ocasiões diferentes e separadas e distantes no tempo.

Para as situações espontâneas, a ESC defende que a medição deve ser feita seguindo o seguinte protocolo, que aqui apresento resumido:

- Permitir ao indivíduo sentar e descansar numa sala sem barulho, antes das medições da pressão arterial;
- Recolher pelo menos 2 medições com intervalo de 1 a 2 minutos e repetir as vezes que considerar necessário caso os valores sejam muito dispares;
- Colocar a braçadeira ao nível/altura do coração, seja qual for a posição do indivíduo;
- A medição será feita idelamente no braço não dominante, exceto se houverem contra-indicações para a mesma.

VIII - Protocolo inicial do projeto

Estudo das respostas neuropsicológicas e neurofisiológicas cerebrais em sujeitos normais associadas à aplicação de campos magnéticos cerebrais.

A estimulação magnética transcraniana repetitiva (ETMr) conheceu um crescimento na sua aplicação durante os anos 90 em doentes com depressão crónica refractária à medicação, (eg: Spear et al, 2009, Hadley et al, 2011) estando atualmente a ser usada com sucesso nesses casos e com aprovação da FDA.

Na última década a aplicação da ETMr noutras patologias permanece um processo investigacional (eg: Ahmed et al, 2011; Kakuda et al, 2011, Minks et al, 2011), principalmente pelas respostas antagónicas fornecidas pelos vários artigos publicados, o que pode ser explicado pela ausência de *guidelines* de atuação, seja pela utilização de grupos demasiado pequenos, protocolos de intervenção pouco definidos e o uso de diferentes protocolos não padronizados.

Objetivos

Vários estudos com ETMr propõem efeitos cognitivos específicos com a utilização da técnica, com resultados variáveis e com alguma aplicação a patologias com défice cognitivo (para uma revisão ver Guse et al, 2009; Luber et al, 2008; Capeletti et al, 2008). O propósito deste projeto é utilizar um protocolo de intervenção standard e testar os efeitos cognitivos que se obtêm com a aplicação deste protocolo em sujeitos sem patologia. O efeito do cansaço a nível cognitivo será outro dos objetivos do estudo. Para além disso procuramos obter respostas imunitárias após a estimulação magnética para comparação/ avaliação do efeito da EMTr a nível do Sistema imune em sujeitos saudáveis.

Materiais e Métodos

Os voluntários, com idade igual ou superior a 18 anos, não receberão nenhum benefício por participarem no projeto e serão avaliados clinicamente com ECG antes e depois da avaliação.

São critérios de exclusão do projeto:

- 1 - Presença de elementos de metal na cabeça (excluindo região oral)
- 2 - Sujeitos com diagnóstico de epilepsia ou com história pessoal de uma ou mais convulsões.

3 - História de patologia cerebral de etiologia vascular, tumoral, infecciosa ou metabólica sem controlo com medicação antiepilética.

4 - Presença de Pacemakers ou linhas intracardíacas.

5 - Doentes com doença cardíaca grave.

6 - Doentes com pressão intracraniana aumentada (ex: pós enfarte ou trauma).

7 - Mulheres em idade concecional devem ser questionadas sobre possível gravidez e em caso positivo ou caso de dúvida devem ser excluídas do estudo.

8 - Antidepressivos tricíclicos, neurolépticos e outras drogas que diminuem o limiar convulsivo, sem concomitante toma de medicação anticonvulsiva.

9 - Antecedentes de alcoolismo, ingestão de álcool nas 24 horas prévias à rTMS ou privação de sono na noite anterior.

A fase principal do estudo decorrerá no mês de setembro de 2011 na Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, sendo os voluntários convidados igualmente para uma segunda fase de testes após cerca de 9 meses, de forma a estudar os eventuais efeitos do cansaço acumulado ao longo deste período.

Os voluntários serão avaliados clinicamente, com ECG, e teste de glicemia capilar antes e depois dos testes neuropsicológicos e da prova de estimulação magnética. Amostras de saliva (ou sangue periférico de acordo com a vontade dos voluntários) serão recolhidas antes e depois da rTMS.

Os voluntários serão divididos em 5 grupos.

O grupo I será composto por voluntários escolhidos aleatoriamente e será testado antes da aplicação de ETMr com testes neuropsicológicos e potenciais evocados de longa latência. Um ciclo excitatório ao hemisfério esquerdo será feito (de acordo com as guidelines do último *consensus* de segurança em EMT-Rossi, et al 2009) e os testes neuropsicológicos e os potenciais evocados são repetidos num período de 1 hora.

O grupo II será composto por voluntários escolhidos aleatoriamente e será testado antes da aplicação de ETMr com testes neuropsicológicos e potenciais evocados de longa latência. Um ciclo excitatório ao hemisfério direito será feito (de acordo com as guidelines do último

consensus de segurança em EMT-Rossi, et al 2009) e os testes neuropsicológicos e os potenciais evocados são repetidos num período de 1 hora.

O grupo III será composto por voluntários escolhidos aleatoriamente e será testado antes da aplicação de ETMr com testes neuropsicológicos e potenciais evocados de longa latência. Um ciclo placebo será feito (de acordo com as guidelines do último *consensus* de segurança em EMT-Rossi, et al 2009) e os testes neuropsicológicos e os potenciais evocados são repetidos num período de 1 hora.

O grupo IV será composto por voluntários escolhidos aleatoriamente e será testado antes da aplicação de ETMr com testes neuropsicológicos e potenciais evocados de longa latência. Um ciclo inibitório do hemisfério direito será feito (de acordo com as guidelines do último *consensus* de segurança em EMT-Rossi, et al 2009) e os testes neuropsicológicos e os potenciais evocados são repetidos num período de 1 hora.

O grupo V será composto por voluntários escolhidos aleatoriamente e será testado antes da aplicação de EMTr com testes neuropsicológicos e potenciais evocados de longa latência. Um ciclo inibitório de EMTr dirigido ao hemisfério esquerdo será feito (de acordo com as guidelines do último *consensus* de segurança em EMT-Rossi, et al 2009) e os testes neuropsicológicos e os potenciais evocados de longa latência são repetidos após um período de 1 hora.

Antes do período de férias os voluntários serão convidados a repetir o estudo de forma a avaliar o efeito cansaço nas respostas obtidas.

Resultados Esperados

- 1- Obtenção de valores normativos antes e depois da EMTr no hemisfério estudado em relação aos testes neuropsicológicos e aos potenciais evocados de longa latência e posterior comparação com as respostas do hemisfério contralateral:
 - a. EMTr excitatória do hemisfério esquerdo vs EMTr excitatória do hemisfério direito.
 - b. EMTr inibitória do hemisfério esquerdo vs EMTr inibitória do hemisfério direito.
 - c. EMTr excitatória do hemisfério esquerdo vs EMTr inibitória do hemisfério direito.
 - d. EMTr inibitória do hemisfério esquerdo vs EMTr excitatória do hemisfério direito.

- 2- Obtenção de valores normativos antes e depois da EMTr sham ou placebo em relação aos testes neuropsicológicos e aos potenciais evocados de longa latência e comparação das respostas com os resultados das estimulações excitatórias e inibitórias.
 - a. EMTr sham vs EMTr excitatória do hemisfério esquerdo.
 - b. EMTr sham vs EMTr inibitória do hemisfério direito.
 - c. EMTr sham vs EMTr excitatória do hemisfério direito.
 - d. EMTr sham vs EMTr inibitória do hemisfério esquerdo.

- 3- Obtenção de valores normativos antes e depois das sessões de EMTr em relação aos testes neuropsicológicos e aos potenciais evocados de longa latência de acordo com idade dos participantes (jovens vs mais idosos).

- 4- Obtenção de valores normativos das alterações do sistema imune com a EMTr em voluntários saudáveis.

- 5- Comparação das respostas dos testes neuropsicológicos e potenciais evocados de longa latência ligadas à EMTr entre as duas fases do estudo - pré e pós período longo de descanso ou férias.