

Efeitos da Estimulação *Theta Burst* Contínua no Limiar Sensitivo em Jovens Adultos Saudáveis

Ana Rafaela Senra Gomes

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(Mestrado Integrado)

Orientadora: Professora Doutora Maria da Assunção Cunha Vaz Patto
Coorientador: Professor Doutor Jorge Manuel dos Reis Gama
Coorientador: Professor Doutor Nuno Filipe Cardoso Pinto

março de 2022

Dedicatória

Ao meu avô, António Gomes Queirós Senra:

“I can no longer see you with my eyes or touch you with my hands but I will feel you in my heart forever.”

Agradecimentos

À Universidade da Beira Interior, e em particular à Faculdade de Ciências da Saúde, pela formação e ferramentas fornecidas que permitiram o desempenho desta dissertação e que contribuíram para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

Aos meus orientadores, Professores Doutores Assunção Vaz Patto, Jorge Gama e Nuno Pinto, pela orientação, disponibilidade, preocupação e apoio incansáveis.

Ao meu colega e amigo Ricardo Lopes, que embarcou e viveu esta aventura comigo.

Aos colegas que participaram voluntariamente e permitiram a realização desta investigação.

Aos meus pais e à minha irmã, por sempre terem acreditado em mim.

Ao Rui, pela compreensão e apoio.

E a todos os amigos que tornaram esta caminhada mais bonita.

Resumo

Introdução: A sensibilidade tátil pode ser afetada em várias patologias do sistema nervoso central, podendo originar compromisso significativo da qualidade de vida dos doentes. A estimulação magnética transcraniana repetitiva por *Theta Burst* (TBS) é uma técnica de neuroestimulação e neuromodulação não invasiva, capaz de modular a excitabilidade cortical. Embora bastante estudada noutras regiões corticais, a aplicação desta técnica no córtex somatossensorial primário (SI) e, conseqüentemente, na avaliação da sensibilidade tátil, continua subinvestigada.

Objetivo: Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da TBS contínua (cTBS), com efeitos inibitórios, sobre o limiar sensitivo em jovens adultos saudáveis após estimulação do córtex somatossensorial primário (SI) contralateral.

Metodologia: Trinta jovens adultos saudáveis, com idades entre os 19 e os 29 anos (média de $22,93 \pm 2,27$ anos), foram aleatoriamente distribuídos entre dois grupos e submetidos a estimulação com cTBS ou placebo. Cada sessão experimental duplamente cega compreendeu a avaliação dos limiares sensitivos, usando estímulos elétricos periféricos com frequências de 1 e 5Hz, antes e após estimulação.

Resultados: Embora se tenha verificado uma tendência para o aumento dos limiares sensitivos médios após estimulação, cTBS e Sham, a frequências de 1 e 5Hz, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nas comparações pré-pós cTBS ou entre grupos.

Conclusão: Uma sessão única de estimulação inibitória não parece induzir neuromodulação eficaz do córtex somatossensorial primário (SI) saudável, o que se refletiu na ausência de diferenças significativas nas respostas da população estimulada e da população placebo.

Palavras-chave

Limiar Sensitivo; Estimulação Magnética Transcraniana repetitiva; Estimulação *Theta Burst* contínua; Córtex Somatossensorial Primário.

Abstract

Introduction: Tactile sensory can be affected in several pathologies of the central nervous system, which can cause a significant compromise of patient's quality of life. Repetitive transcranial magnetic stimulation through Theta Burst (TBS) is a non-invasive neurostimulation and neuromodulation technique capable of modulating cortical excitability. Although studied in other cortical regions, the application of this technique in the primary somatosensory cortex (SI) and consequently in the assessment of tactile sensory continues under-used.

Objective: This study aimed to evaluate the impacts of continuous TBS (cTBS), with inhibitory effects, over the sensory threshold in healthy young adults after stimulation of the contralateral primary somatosensory cortex (SI).

Methods: Thirty healthy young adults, aged between 19 and 29 years-old (an average of $22,93 \pm 2,27$ years-old), were randomly distributed into two groups and submitted to stimulation with cTBS or placebo. Each doubly blind experimental session also comprised the assessment of the sensory threshold using peripheral electrical stimuli with frequencies of 1 and 5Hz, before and after the stimulation.

Results: Although there was an increase of the average sensory thresholds after the stimulation, cTBS, and Sham, at frequencies of 1 and 5Hz, there were not found statistically significant differences in the pre-post cTBS or between groups.

Conclusion: A single inhibitory stimulation session does not seem to induce effective neuromodulation of the primary somatosensory cortex (SI), which reflected in the absence of significant differences in responses from the stimulated population and the placebo population.

Keywords

Sensory Threshold; Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation; continuous Theta Burst Stimulation; Primary Somatosensory Cortex.

Índice

Dedicatória	iii
Agradecimentos	v
Resumo	vii
Palavras-chave	vii
Abstract	ix
Keywords	ix
Índice	xi
Lista de Figuras	xiii
Lista de Tabelas	xv
Lista de Siglas e Acrónimos	xvii
1. Introdução	1
2. Materiais e métodos	5
2.1 Participantes	5
2.2 Estimulação Periférica	5
2.3 Estimulação Transcraniana	6
2.4 Procedimento	6
2.5 Análise Estatística	7
3. Resultados	9
4. Discussão	15
5. Conclusão	17
6. Referências	19

Lista de Figuras

Figura 1. Limiares sensitivos médios a 1Hz nos grupos cTBS e Sham, pré e pós-estimulação	11
Figura 2. Limiares sensitivos médios a 5Hz nos grupos cTBS e Sham, pré e pós-estimulação	11

Lista de Tabelas

Tabela 1. Caraterização da amostra (n=30).	9
Tabela 2. Análise descritiva das intensidades A, B e do limiar sensitivo, pré e pós cTBS ou Sham.	10
Tabela 3. Efeitos da estimulação transcraniana, do tipo de estimulação (grupo) e interação estimulação transcraniana versus grupo nos limiares sensitivos, a 1Hz e 5Hz – ANOVA de Medidas Repetidas Mista.	10
Tabela 4. Comparação das médias pós e pré-estimulação das intensidades A, a 1Hz e 5Hz, B, a 1Hz e 5Hz, limiar sensitivo, a 1Hz e 5Hz, em cada grupo – Teste LSD.	12
Tabela 5. Comparação das médias das intensidades A, a 1Hz e 5Hz, B, a 1Hz e 5Hz e limiar sensitivo, a 1Hz e 5Hz, entre os grupos, pré e pós estimulação – teste LSD.	13

Lista de Siglas e Acrónimos

ANOVA	Análise de Variância
AVC	Acidente Vascular Cerebral
cTBS	Estimulação <i>Theta Burst</i> contínua
DP	Desvio Padrão
EMT	Estimulação Magnética Transcraniana
EMTr	Estimulação Magnética Transcraniana repetitiva
iTBS	Estimulação <i>Theta Burst</i> intermitente
LSD	<i>Least Significant Difference</i>
M1	Córtex Motor Primário
PEM	Potenciais Evocados Motores
PES	Potenciais Evocados Somatossensoriais
SI	Córtex Somatossensorial Primário
TBS	Estimulação <i>Theta Burst</i>

1. Introdução

No âmbito da Biologia, a sensibilidade pode ser definida como uma propriedade comum aos seres vivos, que consiste na capacidade de receber e reagir a estímulos do ambiente externo. O Sistema Somatossensorial, responsável pelas experiências sensoriais, pode ser dividido em três subsistemas: um medeia a sensação de tato fino, vibração e pressão; outro é responsável pela proprioção; e por fim, o último fornece informações acerca de estímulos dolorosos, alterações na temperatura e tato mais grosseiro (Purves *et al.*, 2005). Os recetores da sensibilidade tátil são geralmente encapsulados por células recetoras especializadas, os mecanorretores, que apresentam menores limiares para disparar potenciais de ação e, portanto, são mais sensíveis à estimulação sensorial. (Purves *et al.*, 2005).

A informação tátil é conduzida por aferentes A β e a via que a transmite é o sistema coluna dorsal-lemnisco medial. Os axónios aferentes (neurónios de primeira ordem) entram na medula espinhal através das raízes dorsais e ascendem ipsilateralmente até ao bulbo inferior onde estabelecem sinapses com os núcleos grácil e cuneiforme (neurónios de segunda ordem). Depois, os axónios seguintes cruzam a linha média e formam o feixe lemnisco medial que ascende até ao tálamo, onde estabelecem sinapses com neurónios talâmicos no núcleo ventral posterior lateral (neurónios de terceira ordem). Estes neurónios enviam os seus axónios até ao córtex somatossensorial primário (SI) no lobo parietal, nomeadamente para as áreas de Brodmann 3a, 3b, 1 e 2 (Purves *et al.*, 2005).

Esta via e, conseqüentemente, a sensibilidade tátil pode ser afetada em várias patologias do sistema nervoso central, como doenças cerebrovasculares, desmielinizantes e degenerativas. Mais de 80% dos doentes que sofrem um Acidente Vascular Cerebral (AVC) experienciam perda aguda de sensibilidade, a qual se torna crónica em mais de 40%. A modalidade sensitiva mais afetada é a sensação tátil (65% a 94%). Esta tem impacto na independência funcional e contribui para a diminuição de qualidade de vida em cerca de 50% a 70% dos sobreviventes. Além disso, a perda de sensibilidade pode levar a complicações secundárias, tais como feridas, abrasões e a síndrome ombro-mão (Doyle *et al.*, 2010). A Esclerose Múltipla como doença neurológica desmielinizante é predominantemente caracterizada por distúrbios da sensibilidade, que se refletem em hiperestesia (muitas vezes alodinia) ou hipoestesia (Scherder *et al.*, 2018). A hiperestesia também está presente em doentes com Síndrome de Dor Regional Complexa, nos quais foi encontrada uma ativação aumentada do SI, parecendo refletir uma sensitização central para o toque (Vartiainen, Kirveskari and Forss, 2008). A ausência dopaminérgica na doença de Parkinson afeta várias áreas corticais (M1 e outras não-motoras), pelo que também origina distúrbios da sensibilidade, tais como dor e parestesia. O anormal processamento central dos sinais sensitivos parece ser o

mecanismo responsável por estes défices sensitivos, sugerindo um papel central do SI (Palomar *et al.*, 2011).

A Estimulação Magnética Transcraniana (EMT) é uma técnica de neuroestimulação e neuromodulação não invasiva, baseada nos princípios de indução eletromagnética de um campo elétrico no cérebro, capaz de despolarizar neurónios e de modular a excitabilidade cortical para além do tempo de estimulação (Rossi *et al.*, 2009). Possibilita o estudo da organização funcional do cérebro humano, revelando-se útil na modulação da atividade cortical (Pinto *et al.*, 2018) e com potencial terapêutico (Rossi *et al.*, 2009; Lefaucheur *et al.*, 2020). A Estimulação Magnética Transcraniana repetitiva (EMTr) quando aplicada sobre o SI parece alterar a sensibilidade tátil e a sua fisiologia - a altas frequências parece aumentar a perceção tátil e a baixas frequências parece diminuir a mesma, alterando consequentemente a amplitude dos potenciais evocados somatossensoriais (Premji, Ziluk and Nelson, 2010). Embora muitos estudos reportem mudanças significativas na excitabilidade corticoespinal após EMTr, outros discordam, parecendo reforçar a ideia que a resposta à EMTr é bastante variável (Vallence *et al.*, 2015).

A técnica *Theta Burst Stimulation* (TBS) é um tipo de EMTr, que utiliza grupos de 3 pulsos de alta frequência (50 Hz), repetidos a 5Hz, geralmente a uma intensidade inferior e durante menos tempo do que a estimulação clássica. Pode alterar a atividade cortical por mais de 60 minutos (Premji, Ziluk and Nelson, 2010; Wischniewski and Schutter, 2015). A TBS pode ser aplicada de forma contínua (cTBS), variante inibitória, ou intermitente (iTBS), variante excitatória (Premji, Ziluk and Nelson, 2010). Ambas têm revelado resultados promissores no âmbito da modulação da sensibilidade e da dor, quer sejam aplicadas no SI, quer sejam aplicadas no córtex motor primário (M1), mas o estudo em patologias da sensibilidade é escasso. Em doentes com história de AVC subcortical há pelo menos 6 meses e disfunção do membro superior, a iTBS aplicada no M1 ipsilesional modulou a excitabilidade corticomotora e aumentou a responsividade de M1 ao estímulo sensitivo, o que sugere que a iTBS pode facilitar a integração sensitivo-motora e, portanto, servir como tratamento adjuvante na reabilitação após um AVC subcortical. A cTBS quando aplicada no M1 contralesional permitiu melhorar a qualidade do treino sensitivo-motor. (Ackerley *et al.*, 2014).

De acordo com Premji *et al.*, quando aplicada no córtex M1 a cTBS diminui a amplitude dos potenciais evocados motores (PEM), enquanto que a iTBS aumenta a amplitude dos mesmos; quando aplicada no SI a cTBS diminui a amplitude dos potenciais evocados somatossensoriais (PES) e a iTBS aumenta a amplitude dos PES, medidos ipsilateralmente à estimulação com TBS; por outro lado, a amplitude dos PES contralaterais à estimulação não sofreu efeitos significativos (Premji, Ziluk and Nelson, 2010). Zapallow *et al.* revelaram que a

aplicação da cTBS diminuiu a excitabilidade cortical da representação do membro inferior direito no SI, evidenciada pela supressão da amplitude dos PES (Zapallow *et al.*, 2012). No entanto, estes resultados referem-se a respostas corticais, desconhecendo-se se há tradução clínica percecionável. Os resultados de Rai *et al* demonstraram uma redução da acuidade tátil da mão direita, temporal e espacial, após cTBS no SI esquerdo, em comparação com nenhuma alteração no grupo sham (Rai *et al.*, 2012). À semelhança deste último, no estudo de Rao *et al* a cTBS sobre o SI esquerdo diminuiu a sensibilidade tátil do dedo indicador direito, o que não sucedeu no grupo Sham. Mas curiosamente, os limiares sensitivos elétricos aumentaram tanto após cTBS como após estimulação Sham (Rao *et al.*, 2020). Embora promissora, existe uma grande variabilidade inter e intraindividual na magnitude das mudanças plásticas observadas após TBS que dificulta as suas aplicações clínicas, sendo um fator limitante na avaliação objetiva dos resultados (Vallence *et al.*, 2015; Katagiri *et al.*, 2020).

A sensibilidade tátil é uma componente do exame neurológico de difícil estudo, visto ser subjetiva, isto é, dependente da percepção do sujeito. Ao longo da história, especialmente no contexto de lesões neurológicas que comprometem a sensibilidade, desenvolveram-se ferramentas na tentativa de classificar e quantificar tais perturbações (Leong *et al.*, 2009). Surgiram as avaliações qualitativas, tais como o toque com algodão/dedo do examinador e posteriormente as quantitativas, como o exame de Semmes-Weinstein e, mais recentemente, a estimulação elétrica (Hedman and Sullivan, 2011). Não existe, porém, uma forma definitiva de avaliar a sensibilidade. São necessários novos métodos de avaliação da sensibilidade que sejam mais sensíveis na deteção de mudanças ao longo do tempo, que quantifiquem o grau de melhoria/disfunção e que sejam válidos, confiáveis, reproduzíveis e minuciosos (Leong *et al.*, 2009).

A presente dissertação pretendeu investigar se a aplicação da cTBS alteraria o limiar sensitivo tátil em jovens adultos saudáveis após estimulação no SI contralateral, usando uma técnica de avaliação da sensibilidade baseada na estimulação elétrica repetitiva periférica com duas frequências distintas.

2. Materiais e métodos

Esta investigação classifica-se como monocêntrica, prospetiva, controlada, duplamente cega (investigadores e voluntários desconhecem a que grupo cada sujeito avaliado pertence), randomizada e experimental.

2.1 Participantes

O estudo foi realizado em 30 voluntários saudáveis, 23 mulheres e 7 homens, entre os 19 e os 29 anos (média $22,93 \pm 2,27$ anos), sem história sugestiva ou evidência clínica de neuropatia ou disfunção periférico-central do sistema sensorial. Este foi divulgado via e-mail institucional da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior e inscreveram-se como voluntários 47 indivíduos. Destes, 5 foram excluídos por apresentarem algum critério de exclusão (lesão cerebral ou traumatismo cranioencefálico severo prévios, epilepsia ou história de convulsões, doença major incluindo doenças neuropsiquiátricas, uso de medicação durante o estudo, gravidez, dispositivos implantados ou artigos de metal na cabeça, excluindo região oral, privação do sono, alcoolismo e história de abuso de drogas) e 12 não compareceram no dia da sessão. Todos os voluntários eram destros. Foram instruídos a evitar privação de sono, álcool e substâncias psicoativas nas 48 horas anteriores ao procedimento e assinaram um consentimento informado no dia da sessão. Os 30 voluntários foram aleatoriamente divididos em dois grupos - 15 foram submetidos a estimulação cTBS e 15 foram submetidos a estimulação Sham. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética da Universidade da Beira Interior (CE-FCS-2011-001), em conformidade com a Declaração de Helsínquia.

2.2 Estimulação Periférica

Para proceder à estimulação cutânea periférica colocaram-se dois elétrodos de anel e gel condutivo (adequados para eletroneurografia) no dedo indicador direito, separados por 3cm, com o ânodo na falange distal. No dorso da mão foi colocado um eletrodo terra. Estes estavam ligados a um eletromiógrafo Dantec Keypoint (Keypoint.net v.2.03.) usado nos estudos eletroneuromiográficos, produzindo um estímulo monofásico por onda quadrada, controlado, de intensidade crescente (mínimo de 1mA) e com duração fixa de 0,1 ms. A temperatura da pele da palma da mão direita foi medida em todos os voluntários, de forma a assegurar que todos mantinham uma temperatura superior a 34°C (média $36,32 \pm 0,27^{\circ}\text{C}$). Os estímulos elétricos foram aplicados de forma repetitiva com duas frequências, 1Hz e 5Hz, e foi medida, em mA, a intensidade necessária para produzir a mínima percepção de sensação (limiar sensitivo percecionado). Inicialmente, o estímulo foi enviado em aumentos de 1 mA, até que o voluntário identificasse o estímulo (intensidade A). Posteriormente, partindo de

uma intensidade 5 mA superior à percepção inicial, a intensidade foi decrescendo (decréscimos de 1 mA) até o voluntário deixar de sentir o estímulo (intensidade B). O limiar sensitivo final foi definido como a média entre as intensidades A e B. O procedimento foi aplicado para a frequência de 1Hz e 5Hz, cuja ordem de apresentação em cada indivíduo foi aleatória (Cruccu *et al.*, 2008; Ellaway and Catley, 2013; Martins *et al.*, 2013). A estimulação elétrica da pele foi efetuada antes e após a estimulação transcraniana.

2.3 Estimulação Transcraniana

A estimulação transcraniana realizou-se nas instalações da FCS-UBI sob supervisão médica, seguindo as adequadas normas de segurança (Rossi *et al.*, 2009). Foi aplicada a variante contínua (cTBS) no SI esquerdo com uma bobina formato borboleta (figure-8) MCF-B70 e um equipamento MagVenture MagPro G3 X100 (v5.0.1). Seguiu o protocolo cTBS de Huang *et al.* (2005), consistindo na aplicação de grupos de 3 pulsos magnéticos de 50Hz, repetidos a cada 200ms (5Hz), de forma contínua até se atingir um total de 600 pulsos (Huang *et al.*, 2005). A intensidade da estimulação (intensidade TBS) foi individualizada para cada voluntário, sendo 80% do Limiar Motor Ativo (LMA), definido como a intensidade mínima capaz de originar uma resposta motora visível em 50% de 10 pulsos magnéticos singulares enviados, enquanto o voluntário mantém uma contração mínima do músculo curto abdutor do polegar contralateral à estimulação (Huang *et al.*, 2005; Di Lazzaro *et al.*, 2008; Sandrini, Umiltà and Rusconi, 2011). A região cortical que originou a maior resposta motora visível foi identificada como *hotspot*. Para o local a estimular usou-se a referência anatômica Cz do sistema 10-20, medindo 7cm lateralmente para a esquerda e 0,5cm posteriormente (Holmes *et al.*, 2019). No grupo controlo, foi usada a mesma bobina, modificando o plano de contacto com o crânio – rotação da bobina a 90 graus, mas mantendo o contacto com o escalpe e o som, e a intensidade foi reduzida para 50% LMA, de modo a sugerir que os voluntários estariam a ser estimulados, embora este estímulo não alcançasse de forma efetiva os neurónios corticais (estimulação Sham) (Di Lazzaro *et al.*, 2008; Rossi *et al.*, 2009; Sandrini, Umiltà and Rusconi, 2011).

2.4 Procedimento

Previamente à participação dos voluntários, foi explicado todo o procedimento e foram recolhidos os consentimentos informados. Cada sessão experimental compreendeu duas avaliações dos limiares sensitivos, antes e após a estimulação transcraniana, cTBS ou Sham. A distribuição aleatória pelos grupos foi feita através do método de moeda ao ar. Com os voluntários sentados confortavelmente numa poltrona foi-lhes medida a temperatura da mão

direita, que tinha de ser superior a 34°C. Colocaram-se os elétrodos no dedo indicador direito e iniciou-se o procedimento.

- a) Mediram-se os limiares sensitivos, de forma aleatória, com estímulos elétricos cutâneos a frequências de 1Hz e 5Hz. A estimulação a 1Hz parece ativar de forma predominante as fibras C (53%), que transmitem a dor difusa; em contrapartida, a 5Hz parece haver maioritariamente ativação das fibras A β (64%), que conduzem a sensação tátil (Martins *et al.*, 2013). Pelo explicado, foram usadas duas frequências, de forma a verificar se a frequência do estímulo afetaria os resultados. Para cada frequência foram feitas sempre duas medições: a primeira assim que sentissem o estímulo (intensidade A) e a segunda quando deixassem de o sentir (intensidade B), traçando os limiares sensitivos através da média de ambas as medições.
- b) Os voluntários foram de seguida submetidos a estimulação transcraniana, consoante o grupo ao qual pertenciam, com cTBS ou Sham, no SI esquerdo, durante 40 segundos. Um minuto após a estimulação transcraniana repetiu-se a estimulação cutânea e respetivas medições. O termo “estimulação transcraniana” representa o ato de estimular, independentemente do grupo, e marca a transição entre as duas fases de medições das variáveis; o termo “grupo” representa os dois grupos em estudo, cTBS e Sham.

2.5 Análise Estatística

Os dados do estudo foram analisados através do programa IBM SPSS Statistics 27 e estes foram descritos pelas médias, desvios padrão (DP), medianas, máximos e mínimos.

Para a análise inferencial, utilizou-se uma ANOVA de medidas repetidas mista, onde se considerou o efeito dos grupos de estimulação (cTBS e Sham). Os pressupostos da ANOVA foram verificados com os testes de Shapiro-Wilk e Levene e verificou-se que não houve, em geral, violação dos pressupostos da normalidade e homogeneidade das variâncias, respetivamente. Para as comparações à posteriori entre médias recorreu-se ao teste LSD (*Least Significant Difference*) de Fisher. Não foi necessária a correção do erro tipo I devido ao facto de somente existirem dois grupos e, para cada medida, uma única repetição.

Foram considerados significativos os testes de hipóteses cujo valor de prova (p-value) não excedeu o nível de significância de 5% e os intervalos de confiança nos gráficos foram considerados a 95%.

3. Resultados

Dos trinta voluntários (média $22,93 \pm 2,27$ anos), 23 eram do sexo feminino e 7 eram do sexo masculino (tabela 1). O grupo cTBS foi constituído por 9 mulheres e 6 homens; o grupo Sham foi constituído por 14 mulheres e 1 homem.

Devido ao reduzido número de voluntários do sexo masculino em cada grupo, decidimos não considerar a influência do sexo nas variáveis.

Nas 48h após o procedimento, apenas um voluntário de cada grupo reportou cefaleia ligeira após a estimulação. Não foram reportados eventos adversos *major* pós-estimulação.

A temperatura média dos voluntários foi $36,32^{\circ}\text{C}$ e a intensidade TBS média foi 38% (tabela 1).

Tabela 1: Caraterização da amostra (n=30).	
Género Feminino (n)(%)	23 (76,7)
Idade (em anos)	
Média±DP	22,93±2,27
Mediana (Máx.; Mín.)	23 (19; 29)
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	
Média±DP	36,32±0,27
Mediana (Máx.; Mín.)	36,4 (35,8; 36,9)
Intensidade TBS (%)	
Média±DP	38,00±6,06
Mediana (Máx.; Mín.)	36,0 (28,0; 50,0)

A tabela 2 diz respeito à análise descritiva (médias e desvios-padrão amostrais) das variáveis intensidades A, B e limiar sensitivo, pré e pós estimulação com cTBS ou Sham, a 1 e 5Hz.

Tabela 2: Análise descritiva das intensidades A, B e do limiar sensitivo, pré e pós cTBS ou Sham.				
ⁱ Pré-estimulação; ^f Pós-estimulação				
Variável	cTBS (n=15)		Sham (n=15)	
	Média±DP	Mediana (mín.; máx.)	Média±DP	Mediana (mín.; máx.)
Intensidade A 1Hz ⁱ	2,60±0,78	2,5 (1,4; 3,8)	2,33±0,70	2,3 (1,1; 3,4)
Intensidade A 1Hz ^f	2,72±1,10	2,4 (1,2; 4,7)	2,40±0,76	2,4 (0,5; 3,5)
Intensidade B 1Hz ⁱ	2,45±0,68	2,2 (1,5; 3,9)	2,21±0,72	2,2 (1,0; 3,4)
Intensidade B 1Hz ^f	2,53±0,96	2,5 (1,2; 4,6)	2,25±0,74	2,4 (0,6; 3,4)
Limiar Sensitivo 1Hz ⁱ	2,52±0,71	2,3 (1,5; 3,9)	2,27±0,70	2,3 (1,1; 3,4)
Limiar Sensitivo 1Hz ^f	2,62±1,02	2,5 (1,2; 4,7)	2,33±0,75	2,4 (0,6; 3,5)
Intensidade A 5Hz ⁱ	2,54±0,81	2,2 (1,2; 4,0)	2,21±0,70	2,2 (1,0; 3,6)
Intensidade A 5Hz ^f	2,57±1,08	2,2 (0,6; 4,6)	2,33±0,61	2,3 (1,4; 3,4)
Intensidade B 5Hz ⁱ	2,55±0,74	2,4 (1,5; 4,2)	2,19±0,83	2,2 (0,4; 3,5)
Intensidade B 5Hz ^f	2,55±1,00	2,4 (0,8; 4,5)	2,27±0,83	2,4 (0,5; 3,6)
Limiar Sensitivo 5Hz ⁱ	2,55±0,76	2,3 (1,4; 4,1)	2,20±0,74	2,2 (0,7; 3,6)
Limiar Sensitivo 5Hz ^f	2,56±1,03	2,3 (0,7; 4,6)	2,30±0,69	2,4 (1,2; 3,5)

A tabela 3 apresenta o efeito da estimulação transcraniana, a interação em relação ao tipo de grupo e o efeito do grupo (ANOVA de Medidas Repetidas Mista) nos limiares sensitivos, a 1 e 5Hz.

Tabela 3 – Efeitos da estimulação transcraniana, do tipo de estimulação (grupo) e interação estimulação transcraniana versus grupo nos limiares sensitivos, a 1Hz e 5Hz – ANOVA de Medidas Repetidas Mista.			
Variável	Efeito da estimulação pré-pós p-value	Interação Estimulação-Grupo p-value	Efeito do Grupo p-value
Intensidade A 1Hz	0,185	0,701	0,342
Intensidade B 1Hz	0,429	0,791	0,366
Limiar Sensitivo 1Hz	0,269	0,734	0,347
Intensidade A 5Hz	0,346	0,558	0,335
Intensidade B 5Hz	0,587	0,587	0,299
Limiar Sensitivo 5Hz	0,391	0,518	0,307

Não encontramos efeitos estatisticamente significativos da estimulação transcraniana, interação em relação ao tipo de grupo e efeito do grupo nos limiares sensitivos, a 1 e 5Hz (tabela 3).

Os limiares sensitivos médios, a 1 e 5Hz, pré e pós estimulação, entre os grupos cTBS e Sham, são mostrados nas Figuras 1 e 2.

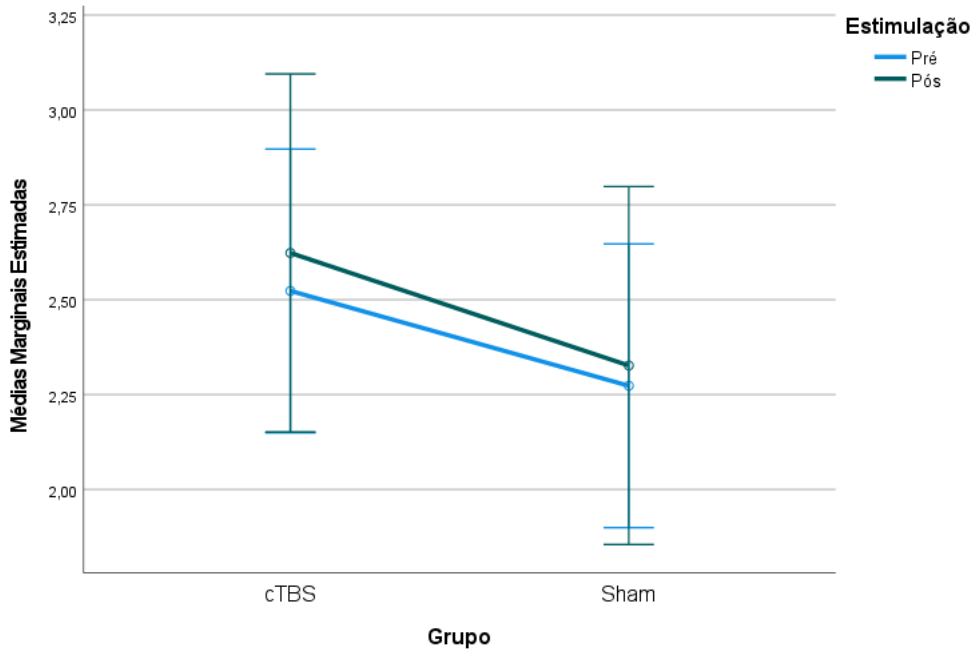


Figura 1| Limiares sensitivos médios a 1Hz nos grupos cTBS e Sham, pré e pós-estimulação.

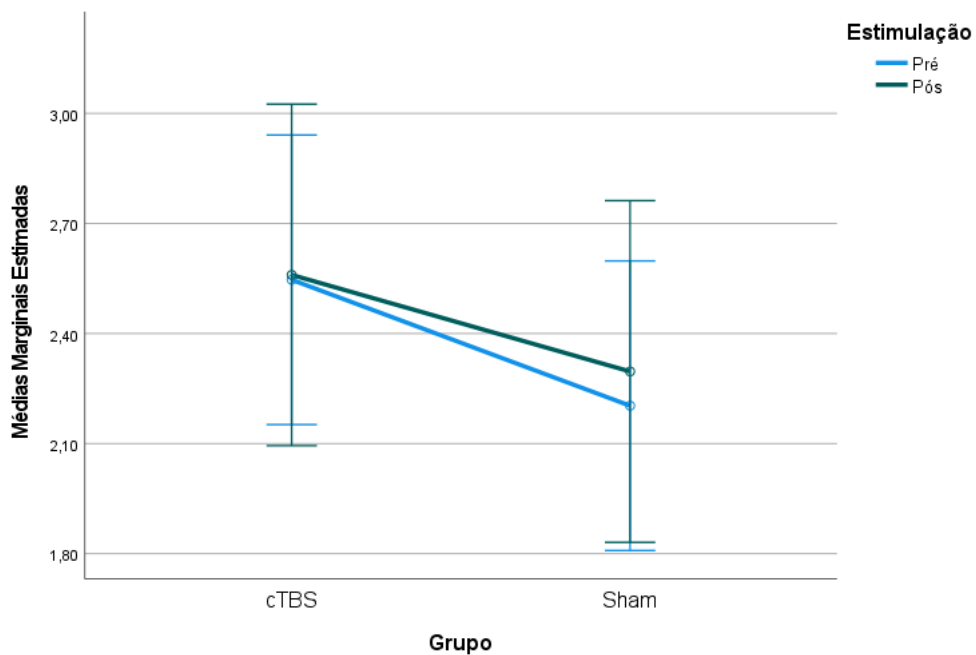


Figura 2| Limiares sensitivos médios a 5Hz nos grupos cTBS e Sham, pré e pós-estimulação.

Independentemente da frequência do estímulo cutâneo, parece ter havido um comportamento semelhante nos dois grupos, verificando-se um aumento do limiar sensitivo médio após estimulação. Além disso, observa-se também uma diferença basal entre os dois grupos – o grupo Sham apresenta limiares sensitivos médios inferiores na pré-estimulação.

A tabela 4 apresenta a diferença das médias pós e pré-estimulação dos limiares sensitivos médios, a 1Hz e 5Hz, para cada grupo (teste LSD de Fisher).

Tabela 4 – Comparação das médias pós e pré-estimulação das intensidades A, a 1Hz e 5Hz, B, a 1Hz e 5Hz, limiar sensitivo, a 1Hz e 5Hz, em cada grupo – Teste LSD.				
Variável	cTBS		Sham	
	Diferença das médias Pós-Pré	p-value	Diferença das médias Pós-Pré	p-value
Intensidade A 1Hz	0,120	0,227	0,067	0,498
Intensidade B 1Hz	0,080	0,456	0,040	0,708
Limiar sensitivo 1Hz	0,100	0,307	0,053	0,583
Intensidade A 5Hz	0,027	0,798	0,113	0,282
Intensidade B 5Hz	0,000	1,000	0,073	0,444
Limiar sensitivo 5Hz	0,013	0,879	0,093	0,290

Não encontrámos diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos limiares sensitivos médios pré e pós-estimulação, a 1 e 5Hz, em cada grupo (tabela 4).

A comparação entre os grupos, pré e pós-estimulação, é mostrada na tabela 5.

Tabela 5 – Comparação das médias das intensidades A, a 1Hz e 5Hz, B, a 1Hz e 5Hz e limiar sensitivo, a 1Hz e 5Hz, entre os grupos, pré e pós estimulação – teste LSD.		
ⁱ Pré- estimulação; ^f Pós-estimulação		
Variável	Diferença das médias cTBS-sham	p-value
Intensidade A 1Hz ⁱ	0,267	0,336
Intensidade A 1Hz ^f	0,320	0,363
Intensidade B 1Hz ⁱ	0,233	0,369
Intensidade B 1Hz ^f	0,273	0,389
Limiar sensitivo 1Hz ⁱ	0,250	0,341
Limiar sensitivo 1Hz ^f	0,297	0,370
Intensidade A 5Hz ⁱ	0,327	0,246
Intensidade A 5Hz ^f	0,240	0,458
Intensidade B 5Hz ⁱ	0,360	0,221
Intensidade B 5Hz ^f	0,287	0,400
Limiar sensitivo 5Hz ⁱ	0,343	0,218
Limiar sensitivo 5Hz ^f	0,263	0,420

Os dados não evidenciaram diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos limiares sensitivos médios dos grupos, pré e pós-estimulação, a 1 e 5Hz (tabela 5).

4. Discussão

Na presente investigação, foi estudado o efeito da cTBS sobre os limiares sensitivos em jovens adultos saudáveis quando aplicada no SI contralateral. Foi colocada a hipótese que a sua aplicação poderia resultar no aumento dos limiares sensitivos no grupo cTBS em comparação com nenhuma alteração no grupo Sham. O nosso estudo duplamente cego não mostrou diferenças estatisticamente significativas nos limiares sensitivos após a aplicação da estimulação, nem diferenças de resposta entre o grupo Sham e cTBS. Não foram ainda encontrados efeitos adversos de relevo após estimulação cTBS ou Sham no SI contralateral à estimulação cutânea, pelo que contribuímos para o estudo da segurança desse protocolo.

Nesta temática, dos estudos realizados até à data, obtiveram-se resultados positivos quanto à modulação da cTBS sobre o SI com diminuição dos potenciais evocados somatossensoriais (Premji, Ziluk and Nelson, 2010; Zapallow *et al.*, 2012), embora estas sejam apenas respostas corticais, e diminuição da acuidade (Rai *et al.*, 2012) e sensibilidade táteis (Rao *et al.*, 2020) quanto à tradução clínica da percepção. No estudo de Rao *et al.*, verificou-se ainda um aumento significativo do limiar sensitivo elétrico após cTBS e após estimulação Sham (Rao *et al.*, 2020).

No nosso estudo, independentemente da frequência do estímulo cutâneo, os dois grupos comportaram-se de forma semelhante, verificando-se um aumento dos limiares sensitivos médios após estimulação, cTBS ou Sham, embora este não seja estatisticamente significativo. Observando as figuras 1 e 2, verificamos que, tanto no grupo cTBS como no grupo Sham, as médias dos limiares sensitivos aumentaram após a estimulação. O aumento observado após estimulação Sham pode sugerir a habituação ao estímulo elétrico repetido de baixa intensidade do dedo indicador. É provável que o mesmo tenha sucedido no grupo cTBS, o que pode ter influenciado os resultados.

Apesar do aumento dos limiares sensitivos médios após estimulação, cTBS e Sham, a frequências de 1Hz e 5Hz, não foram encontrados efeitos ou diferenças estatisticamente significativos nas comparações pré-pós cTBS ou entre grupos (tabelas 3, 4 e 5). Vários fatores podem ter contribuído para estes resultados:

É possível que o método (estimulação elétrica periférica) ou as frequências usadas não tenham sensibilidade suficiente para detetar os efeitos da cTBS, o que pode ser sustentado por várias hipóteses: será este método incapaz de detetar as diferenças tão pequenas que ocorrem após a estimulação transcraniana? Segundo Martins *et al.*, estímulos com frequências de 5Hz ativam fibras A β , A δ e C e estímulos com frequências superiores (na

ordem dos 2000Hz) ativam apenas fibras A β (Martins *et al.*, 2013): será que incluir uma frequência maior se traduziria num recrutamento maior de fibras A β e, portanto, maior capacidade para detetar estas diferenças? Embora a técnica usada esteja descrita na literatura, como sugestão no futuro poderão também ser usadas outras formas de avaliação.

Outra questão também poderá estar relacionada com a região estimulada. Pelo papel que o SI desempenha na fisiologia do processamento da sensibilidade tátil, este foi o córtex escolhido como alvo da estimulação transcraniana. No entanto, outras escolhas eram possíveis, como por exemplo o córtex M1, cujos estudos, tanto na modulação da sensibilidade como da dor, se têm revelado promissores. Além disso, para a localização do SI partimos de um método standard (clássico), sem auxílio de outros métodos mais elaborados (como por exemplo neuroimagem), não considerando a individualização anatómica. Embora a técnica que usámos esteja descrita, defendida técnica e cientificamente e seja usada por vários autores, talvez os resultados fossem diferentes se tivéssemos usado um sistema de neuronavegação para identificar a zona alvo mais individualizada, promovendo uma área de estimulação mais precisa no SI. Poderíamos ter recorrido, por exemplo, a Ressonância Magnética, ainda que esta também pudesse não fornecer a informação anatómica exata.

Relativamente à estimulação transcraniana, podemos questionar se a intensidade usada (80% LMA) não terá sido demasiado baixa para estimular de forma efetiva a área pretendida (Huang *et al.*, 2005). Próximos estudos poderão experimentar aumentar a percentagem do LMA usada na estimulação transcraniana, de forma a esclarecer esta possível questão técnica.

Uma das limitações associadas à nossa investigação é a amostra relativamente reduzida (n=30; 15 estimulados, 15 sham). Os resultados dos estudos realizados até à data nesta temática por outros autores também têm geralmente uma amostra reduzida – n=10 (Rao *et al.*, 2020), n=11 (Premji, Ziluk and Nelson, 2010), n=18 (Rai *et al.*, 2012), n=19 (Zapallow *et al.*, 2012), entre outros. Estudos futuros deverão recrutar uma amostra maior, de forma a investigar a variabilidade interindividual dos limiares sensitivos elétricos.

Foi explicado a todos os voluntários que deveriam indicar assim que percecionassem o estímulo e igualmente assim que deixassem de o sentir. Porém, dada a subjetividade da sensação, estes reportaram alguma dificuldade em identificar a mínima perceção do estímulo cutâneo elétrico aplicado e incerteza face à indicação do limiar, sobretudo com estímulos a 1Hz. A grande variabilidade intra e interindividual nas respostas à estimulação cerebral não invasiva é um fator limitante, tanto na investigação básica como na aplicada (Vallence *et al.*, 2015); vários fatores contribuem para a variação que ocorre nas respostas à TBS e muitos deles são biológicos (idade, genética, sexo e anatomia dos circuitos neuronais), portanto não

são modificáveis (Katagiri *et al.*, 2020). A idade, a genética e a fisiologia do córtex motor influenciam a variabilidade intersujeito; o nível de atividade física e os níveis de cortisol influenciam as variabilidades inter e intrasujeito. (Vallence *et al.*, 2015). No entanto, achamos que estes fatores não terão desempenhado um papel relevante, dado que os voluntários estudados eram muito similares nas suas características, exceto o fator sexo. De acordo com Komiyama *et al.*, parece haver diferenças significativas em relação ao limiar sensitivo entre sexos - o limiar de deteção tátil na pele do mento foi menor no sexo feminino comparativamente ao sexo masculino, o que parece significar que as mulheres são mais sensíveis ao estímulo do que os homens (Komiyama *et al.*, 2012). Dado que o grupo Sham foi constituído por apenas um indivíduo do sexo masculino, isso pode explicar o facto dos limiares sensitivos médios basais (pré-estimulação) nesse grupo terem sido ligeiramente inferiores e, portanto, poderão explicar a diferença basal encontrada entre cTBS e Sham.

5. Conclusão

Compreender os efeitos da cTBS na modulação da sensibilidade é de elevada importância, na medida em que poderá vir a ser utilizada como arma terapêutica nos distúrbios da sensibilidade, tais como as neuropatias, a fibromialgia, as alterações centrais da sensibilidade, entre outros. Dada a escassa investigação na área e a sua relevância, conclui-se sobre a necessidade de continuar o estudo da sensibilidade e da sua modulação, colmatando posteriormente as limitações desta investigação.

Em resumo, tendo em conta os nossos resultados, parece-nos que uma sessão única de estimulação inibitória não consegue induzir neuromodulação clinicamente eficaz do SI de indivíduos saudáveis, o que se refletiu na ausência de diferenças nas respostas da população estimulada e da população placebo. Em processos futuros sugere-se uma amostra maior, sendo esta constituída pelo mesmo sexo ou com distribuição igualitária entre sexos nos dois grupos, mantendo uma faixa etária definida e, portanto, a semelhança nas características dos voluntários; se utilizado o mesmo método para a estimulação periférica, sugere-se a tentativa com estímulos de frequência superior a 5Hz de forma a melhorar a deteção das possíveis diferenças induzidas pela estimulação transcraniana e também a perceção do estímulo pelos voluntários; na estimulação transcraniana sugere-se o aumento da percentagem (>80%) do LMA, um córtex-alvo diferente ou recorrer a métodos de neuroimagem funcional para localização mais exata da área a estimular.

6. Referências

1. Ackerley, S. J. *et al.* (2014) 'Priming sensorimotor cortex to enhance task-specific training after subcortical stroke', *Clinical Neurophysiology*, 125(7), pp. 1451–1458. doi: 10.1016/j.clinph.2013.11.020.
2. Cruccu, G. *et al.* (2008) 'Recommendations for the clinical use of somatosensory-evoked potentials', *Clinical Neurophysiology*, 119(8), pp. 1705–1719. doi: 10.1016/j.clinph.2008.03.016.
3. Doyle, S. *et al.* (2010) 'Interventions for sensory impairment in the upper limb after stroke', *Cochrane Database of Systematic Reviews*. doi: 10.1002/14651858.cd006331.pub2.
4. Ellaway, P. H. and Catley, M. (2013) 'Reliability of the electrical perceptual threshold and Semmes-Weinstein monofilament tests of cutaneous sensibility', *Spinal Cord*, 51(2), pp. 120–125. doi: 10.1038/sc.2012.96.
5. Hedman, L. D. and Sullivan, J. E. (2011) 'An initial exploration of the perceptual threshold test using electrical stimulation to measure arm sensation following stroke', *Clinical Rehabilitation*, 25(11), pp. 1042–1049. doi: 10.1177/0269215511399475.
6. Holmes, N. P. *et al.* (2019) 'Locating primary somatosensory cortex in human brain stimulation studies: Experimental evidence', *Journal of Neurophysiology*, 121(1), pp. 336–344. doi: 10.1152/JN.00641.2018.
7. Huang, Y. Z. *et al.* (2005) 'Theta burst stimulation of the human motor cortex', *Neuron*, 45(2), pp. 201–206. doi: 10.1016/j.neuron.2004.12.033.
8. Katagiri, N. *et al.* (2020) 'Interindividual Variability of Lower-Limb Motor Cortical Plasticity Induced by Theta Burst Stimulation', *Frontiers in Neuroscience*, 14. doi: 10.3389/fnins.2020.563293.
9. Komiyama, O. *et al.* (2012) 'Influence of age and gender on trigeminal sensory function and magnetically evoked masseteric exteroceptive suppression reflex', *Archives of Oral Biology*, 57(7), pp. 995–1002. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.01.007.

10. Di Lazzaro, V. *et al.* (2008) 'The physiological basis of the effects of intermittent theta burst stimulation of the human motor cortex', *Journal of Physiology*, 586(16), pp. 3871–3879. doi: 10.1113/jphysiol.2008.152736.
11. Lefaucheur, J. P. *et al.* (2020) 'Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS): An update (2014–2018)', *Clinical Neurophysiology*, 131(2), pp. 474–528. doi: 10.1016/j.clinph.2019.11.002.
12. Leong, G. W. S. *et al.* (2009) 'Electrical Perceptual Threshold Testing: A Validation Study', *The Journal of Spinal Cord Medicine*, 32(2), pp. 140-146. doi: 10.1080/10790268.2009.11760765 .
13. Martins, H. R. *et al.* (2013) 'Current perception threshold and reaction time in the assessment of sensory peripheral nerve fibers through sinusoidal electrical stimulation at different frequencies', *Revista Brasileira de Engenharia Biomedica*, 29(3), pp. 278–285. doi: 10.4322/rbeb.2013.028.
14. Palomar, F. J. *et al.* (2011) 'Sensory perception changes induced by transcranial magnetic stimulation over the primary somatosensory cortex in Parkinson's disease', *Movement Disorders*, 26(11), pp. 2058–2064. doi: 10.1002/mds.23779.
15. Pinto, N. *et al.* (2018) 'Bilateral theta-burst magnetic stimulation influence on event-related brain potentials', *PLoS One*, 13(1). doi: 10.1371/journal.pone.0190693.
16. Premji, A., Ziluk, A. and Nelson, A. J. (2010) 'Bilateral somatosensory evoked potentials following intermittent theta-burst repetitive transcranial magnetic stimulation', *BMC Neuroscience*, 11, 91. doi: 10.1186/1471-2202-11-91.
17. Purves, D. *et al.* (2005) 'O Sistema Somatossensorial: Tato e Propriocepção', in *Neurociências*. 2ª. Artmed Editora.
18. Rai, N. *et al.* (2012) 'Continuous theta-burst rTMS over primary somatosensory cortex modulates tactile perception on the hand', *Clinical Neurophysiology*, 123(6), pp. 1226–1233. doi: 10.1016/j.clinph.2011.09.026.

19. Rao, N. *et al.* (2020) 'Time-course of pain threshold after continuous theta burst stimulation of primary somatosensory cortex in pain-free subjects', *Neuroscience Letters*, 722. doi: 10.1016/j.neulet.2020.134760.
20. Rossi, S. *et al.* (2009) 'Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research', *Clinical Neurophysiology*, 120(12), pp. 2008–2039. doi: 10.1016/j.clinph.2009.08.016.
21. Sandrini, M., Umiltà, C. and Rusconi, E. (2011) 'The use of transcranial magnetic stimulation in cognitive neuroscience: A new synthesis of methodological issues', *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(3), pp. 516–536. doi: 10.1016/j.neubiorev.2010.06.005.
22. Scherder, R. J. *et al.* (2018) 'Sensory Function and Chronic Pain in Multiple Sclerosis', *Pain Research and Management*, 2018. doi: 10.1155/2018/1924174.
23. Vallence, A. M. *et al.* (2015) 'Inter- and intra-subject variability of motor cortex plasticity following continuous theta-burst stimulation', *Neuroscience*, 304, pp. 266–278. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.07.043.
24. Vartiainen, N. V., Kirveskari, E. and Forss, N. (2008) 'Central processing of tactile and nociceptive stimuli in complex regional pain syndrome', *Clinical Neurophysiology*, 119(10), pp. 2380–2388. doi: 10.1016/j.clinph.2008.06.008.
25. Wischnewski, M. and Schutter, D. J. L. G. (2015) 'Efficacy and time course of theta burst stimulation in healthy humans', *Brain Stimulation*, 8(4), pp. 685–692. doi: 10.1016/j.brs.2015.03.004.
26. Zapallow, C. M. *et al.* (2012) 'Theta burst repetitive transcranial magnetic stimulation attenuates somatosensory evoked potentials from the lower limb', *BMC Neuroscience*, 13(133). doi: 10.1186/1471-2202-13-133.

