



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

**Estimulação magnética transcraniana repetitiva
sobre o córtex esquerdo:
Efeitos na oxigenação cerebral, pressão arterial e
frequência cardíaca**

Helena Sofia dos Santos Gonçalves

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

Orientadora: Professora Doutora Maria Assunção Vaz Patto
Co-orientador: Professor Doutor Jorge Gama

Covilhã, Maio de 2013

“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade colectiva por toda a humanidade.”

Marie Curie

Agradecimentos

Aos meus orientadores, Professora Doutora Assunção Vaz Patto e Professor Doutor Jorge Gama, pela sua pronta disponibilidade, compreensão, dedicação e apoio prestado durante todo o processo.

Aos meus pais, pelo apoio, paciência, dedicação e amor.

Á Eugénia, á Ana, á Sandra e ao Sérgio pela amizade, amor e apoio demonstrado ao longo de todo este percurso.

Ao Carlos, ao Eleutério e á Carina por todo o apoio.

Aos “miúdos” por serem minha verdadeira inspiração.

Ao Duarte, por todo o apoio, paciência e carinho que tornaram os obstáculos muito menos difíceis de superar.

Ao Nuno, ao Ricardo, á Marta e á Professora Doutora Amélia Nunes por terem sido verdadeiros companheiros de equipa, com quem tive o prazer de partilhar momentos únicos e por todo o apoio prestado ao longo do trabalho.

Aos voluntários pela sua disponibilidade, pois sem a sua colaboração e paciência o trabalho não se teria realizado. A todos aqueles que se voluntariaram, mas que não foram seleccionados, também agradeço.

Aos elementos dos LAC, especialmente à Magda Cassapo, pelo material fornecido e pela disponibilidade mostrada durante todo o estudo.

Ao Sr. Joaquim e ao Pedro pela boa-disposição e paciência todos os dias do estudo.

A todos os meus amigos e colegas de curso pelo apoio e amizade.

Resumo

Introdução: A estimulação magnética transcraniana repetitiva (EMTr) permite alterar a excitabilidade do tecido neuronal através da criação de campos magnéticos. A *theta burst stimulation* (TBS) é um protocolo de EMTr com duas variantes: TBS intermitente (iTBS - estimulação excitatória) e TBS contínua (cTBS - estimulação inibitória). Este estudo tem por objectivo averiguar se a TBS é capaz de produzir alterações na oxigenação cerebral, na pressão arterial e na frequência cardíaca quando aplicada ao córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo em voluntários jovens e saudáveis.

Metodologia: A amostra inclui 79 voluntários, 30 dos quais submetidos a estimulação e 49 submetidos apenas à medição dos valores de oxigenação cerebral, todos entre os 18 e os 30 anos. Os 30 indivíduos estimulados foram divididos equitativamente em 3 grupos: cTBS, iTBS e placebo, tendo todos efectuado uma recolha dos valores de oxigenação cerebral, pressão arterial e frequência cardíaca, antes e depois da estimulação. Os indivíduos pertencentes ao grupo controlo da oxigenação cerebral fizeram apenas duas medições de oxigenação cerebral num intervalo de trinta minutos.

Resultados: Verificou-se que a estimulação inibitória (cTBS) produziu uma diminuição significativa (teste t de student, $p=0,022$) na oximetria do córtex esquerdo e marginalmente significativa na oximetria do córtex direito (teste t de student, $p=0,068$). No grupo excitatório (iTBS), para o córtex esquerdo, verificou-se que na fase “pós-TBS” a oximetria média foi significativamente superior à do grupo controlo (Dunnett, $p=0,012$) e que houve um aumento do valor médio da oxigenação na fase “pós-TBS” em relação à fase “pré-TBS”. Para as variáveis “pressão arterial” e “frequência cardíaca”, não se encontraram valores estatisticamente significativos.

Conclusões: Neste estudo concluiu-se que a cTBS aplicada ao córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo, diminui a oxigenação do lobo frontal ipsilateral. Estes achados sugerem que a diminuição da actividade neuronal produzida pela cTBS poderá levar à diminuição do metabolismo, havendo uma menor necessidade de aporte de oxigénio à área estimulada. No grupo iTBS, a variação da média e os resultados do teste de Dunnett, levam-nos a supor que perante uma amostra maior teríamos obtido um aumento significativo da oxigenação na área estimulada. Concluiu-se ainda que numa população normal entre os 18 e os 30 anos, a variação de oxigenação num intervalo de 30 minutos não é estatisticamente significativa. Os resultados obtidos para as variáveis “frequência cardíaca” e “pressão arterial”, que não

mostraram alterações em ambos os grupos cTBS e iTBS, ajudam a consolidar a segurança da técnica.

Palavras-chave:

Estimulação magnética transcraniana repetitiva (EMTr), Theta-burst-stimulation (TBS), oxigenação cerebral, pressão arterial, frequência cardíaca.

Abstract

Introduction: Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) can change the excitability of neuronal tissue through the induction of electromagnetic fields. Theta burst stimulation (TBS) is an rTMS protocol that has two variants: intermittent TBS (iTBS-excitatory) and continuous TBS (cTBS-inhibitory). This study aims to investigate whether TBS is able to produce changes in cerebral oxygenation, blood pressure and heart rate, when applied to the left dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) in healthy young volunteers.

Materials & Methods: The sample includes 79 individuals, 30 of whom underwent stimulation and 49 that were submitted only to the measurement of cerebral oxygenation values, all between 18 and 30 years. The 30 stimulated individuals were divided equally into 3 stimulation groups: cTBS, iTBS and sham, all having made a collection of brain oxygenation, blood pressure and heart rate values before and after stimulation. The remaining individuals were allocated to the brain's oxygenation control group in which only two measurements of oximetry were made, with an interval of thirty minutes.

Results: It was found that inhibitory stimulation (cTBS) produced significantly lowered values in left's brain oximetry (paired t-test, $p=0,022$) and marginally significant lower values for right brain oximetry (paired t-test, $p=0,068$). Regarding the iTBS, we noted that in the "after-stimulation" phase the left brain oximetry was significantly higher than in the control group (Dunnett, $p=0,006$) and there was an increase in the average value, from the "before" to the "after" phase. On the variables "heart rate" and "blood pressure" we found no significant changes.

Conclusion: In this study we concluded that cTBS, when applied to the left dorsolateral prefrontal cortex, is able to lower brain's oxygenation in the ipsilateral frontal lobe. These findings lead us to suggest that cTBS decreases neuronal activity and consequently its metabolism, leading to decreased oxygen delivery to the stimulated area. The iTBS group average variation and the Dunnett's test result, leads us to believe that if we had a larger sample we could have a significant increase in stimulated area oxygenation. This study also revealed that in a normal population aged 18 to 30 years, variation of cerebral oxygenation within 30 minutes is not significant. The results of "heart rate" and "blood pressure" in individuals undergoing iTBS and cTBS help to consolidate technique security.

Keywords:

Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS), Theta-burst-stimulation (TBS), cerebral oxygenation, blood pressure, heart rate.

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	iv
Abstract.....	vi
Índice	viii
Índice de Tabelas	ix
Índice de Gráficos	x
Lista de Acrónimos.....	xi
Introdução.....	1
Estimulação magnética transcraniana (EMT)	1
Oxigenação cerebral	2
Noções anatómicas e funcionais do lobo frontal do hemisfério esquerdo (HE)	2
Objectivos do estudo.....	2
Material e Métodos	3
Desenho do estudo	3
Procedimentos	4
Medição dos parâmetros em estudo	5
Método TBS	6
Métodos estatísticos.....	6
Resultados.....	7
Resultados da variável principal-Oximetria	7
Resultados das variáveis secundárias - Pressão arterial e Frequência cardíaca	13
Discussão	16
Discussão da variável principal - Oximetria	16
Discussão das variáveis secundárias - Pressão arterial e Frequência cardíaca.....	17
Conclusões e Limitações do Estudo	19
Bibliografia.....	21
Anexos	25

Índice de Tabelas

Tabela 1 Estudo descritivo da oximetria do córtex esquerdo	8
Tabela 2 Estudo descritivo da oximetria do córtex direito	8
Tabela 3 Estudo descritivo da oximetria do grupo controle	8
Tabela 4 Comparação entre as médias da fase pré- TBS e da 1ª medição do grupo controle ...	9
Tabela 5 Testes t de Student da oximetria de ambos os córtices	10
Tabela 6 Teste t de Student do grupo controle	10
Tabela 7 Resultados da ANOVA simples do Córtex Esquerdo	11
Tabela 8 Significância dos testes de múltiplas comparações na fase- pós TBS do córtex esquerdo.....	11
Tabela 9 Estudo descritivo das variáveis pressão arterial e frequência cardíaca.....	14
Tabela 10 Teste t de Student para a pressão arterial e frequência cardíaca	15
Tabela 11 Resultados da Anova Simples para as variáveis secundárias	15

Índice de Gráficos

Gráfico 1 Médias marginais estimadas da oximetria nas fases pré e pós TBS para o córtex esquerdo.....	12
--	----

Gráfico 2 Médias marginais estimadas da oximetria nas fases pré e pós TBS para o córtex direito.....	13
---	----

Lista de Acrónimos

CPFDLE- córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo

cTBS- TBS contínua

DP- desvio padrão

EMT- estimulação magnética transcraniana

EMTr- estimulação magnética transcraniana repetitiva

EP- erro padrão

FC- frequência cardíaca

FSC- fluxo sanguíneo cerebral

HE- hemisfério esquerdo

iTBS- TBS intermitente

p- valor de prova

PA- pressão arterial

SNA- sistema nervoso autónomo

TBS- *theta burst stimulation*

Introdução

Estimulação magnética transcraniana (EMT)

A estimulação magnética transcraniana foi pela primeira vez apresentada, com sucesso, como técnica não invasiva de estudo do tecido neuronal em 1985 por Anthony Barker (1). Esta técnica é baseada na premissa de que uma bobine, capaz de produzir campos electromagnéticos variáveis, quando colocada junto ao crânio pode, através destes campos, gerar alterações iónicas nos neurónios e modificar a sua excitabilidade (1-3). Quando estas alterações da excitabilidade ocorrem de forma repetida parecem ser suficientes para alterar a plasticidade dos neurónios, ou seja, induzir alterações dependentes do uso na sua forma e função, com características mais ou menos duradouras (2, 3). Actualmente a EMT é utilizada como meio de estudo, diagnóstico e tratamento de algumas patologias neurológicas e psiquiátricas (4, 5).

A EMT pode ser aplicada como pulsos de estímulo singulares, aos pares ou em séries (Estimulação magnética transcraniana repetitiva - ETMr), esta última capaz de modular de forma mais duradoura a excitabilidade neuronal na área estimulada e em áreas remotas ao longo de ligações anatómicas funcionais (2, 3, 6). O efeito da ETMr varia segundo o padrão de estimulação aplicada (frequência, direcção e forma da onda) (2). *Huang et al* descreveram um novo protocolo de ETMr, a *theta burst stimulation* (TBS), capaz de produzir alterações fisiológicas e electrofisiológicas rápidas, consistentes e controladas, das funções do sistema motor humano, independentes da forma e direcção da onda e que podem durar até 60 minutos (7, 8). Os autores distinguem dois tipos de TBS: a TBS intermitente (iTBS), que aumenta a eficácia da transmissão entre as conexões sinápticas dos neurónios estimulados, produzindo um efeito excitatório; e a TBS contínua (cTBS), que diminui a capacidade de transmissão entre os neurónios, produzindo um efeito inibitório (8, 9). Alguns estudos sugerem que a TBS pode induzir alterações na oxigenação cerebral, fluxo sanguíneo cerebral, pressão arterial e frequência cardíaca (10-14), mas há discordância entre os resultados, evidenciando a necessidade de novos estudos.

Oxigenação cerebral

A oxigenação cerebral relaciona-se com o fluxo sanguíneo cerebral (FSC), o metabolismo e a actividade neuronal. A taxa de consumo de oxigénio pelos tecidos cerebrais é 3,5 ($\pm 0,2$) mml/O₂ /100 gr, dos quais 30 a 40% mantêm a integridade celular, enquanto o restante participa nos mecanismos fisiológicos intrínsecos dos neurónios. Os neurónios são incapazes de produzir energia através de mecanismos anaeróbios, dependendo assim de um aporte constante de O₂; logo, perante uma diminuição ou maior necessidade deste, o organismo promove um aumento do FSC por mecanismos de vasodilatação, aumentando a percentagem de oxigénio entregue às células por minuto (15).

Noções anatómicas e funcionais do lobo frontal do hemisfério esquerdo (HE)

O lobo frontal promove a organização do movimento e das funções executivas (actividades, emoções e comportamentos complexos) e está subdividido em córtex motor, pré-motor e pré-frontal (16, 17). Relativamente ao córtex pré-frontal, este organiza-se em orbitofrontal, dorsolateral e mesofrontal, relacionados com processos de motivação, memória do trabalho e controlo inibitório de impulsos e interferências, respectivamente (18). Este córtex está associado a patologias psiquiátricas, havendo assim um particular interesse no potencial terapêutico e diagnóstico da rTMS sobre ele (19, 20). Este parece também estar envolvido no controlo do sistema nervoso autónomo (SNA), em conjunto com o córtex insular posterior, ao formar uma “rede central autónoma”, que integra e processa informação proveniente dos centros cognitivos superiores, e transmite-a aos centros autónomos da formação reticular, que desencadeiam a resposta autónoma mais apropriada ao estímulo recebido (21).

Objectivos do estudo

Os objectivos deste estudo são verificar se numa única sessão, a TBS aplicada ao CPFDLE produz alterações:

- 1- na oxigenação cerebral de ambos os hemisférios, pelo estudo da oximetria cerebral;
- 2- na frequência cardíaca e pressão arterial.

Tanto quanto foi possível averiguar, até à data não foram publicados estudos nos quais os dois protocolos de TBS (aplicada ao CPFDLE) e a sua relação com a oxigenação cerebral tivessem sido estudados simultaneamente, assim como a sua relação com a pressão arterial e frequência cardíaca.

Material e Métodos

Desenho do estudo

O estudo incidiu sobre uma amostra de trinta voluntários pertencentes à população de alunos da Faculdade de Ciências da Saúde (FCS) da Universidade da Beira Interior. A amostra foi recolhida após divulgação do estudo por *e-mail* a todos os alunos. Todos os que se mostraram interessados em participar no estudo preencheram um inquérito (ver anexos), através do qual era incluído ou não no estudo:

Critérios de Inclusão:

Pertencer à faixa etária entre os 18 e os 30 anos;

Ser destro;

Critérios de exclusão:

Indivíduos portadores de elementos metálicos na região do crânio (excluindo região oral);

Sujeitos com diagnóstico de epilepsia ou com história pessoal de uma ou mais convulsões, patologia cerebral de etiologia vascular, tumoral, infecciosa ou metabólicas, não controladas com medicação antiepiléptica;

Indivíduos portadores de pacemakers, linhas intracardíacas ou doença cardíaca grave;

Sujeitos portadores de patologia que provoque aumento da pressão intracraniana;

Mulheres grávidas ou com suspeita de gravidez;

Indivíduos sob medicação que reduza o limiar convulsivo, sem concomitante toma de medicação anticonvulsivante;

Indivíduos com história de alcoolismo;

Indivíduos seestros e ambidestros.

O inquérito foi analisado por um observador independente e foi mantida sempre a confidencialidade dos dados.

Os voluntários foram aleatoriamente distribuídos por um de três grupos de estimulação, sendo cada grupo constituído por dez elementos. Este estudo foi duplamente cego.

Dada a inexistência na literatura de valores normativos para a oxigenação cerebral medida pelo instrumento em uso neste estudo, criou-se um novo grupo de 49 voluntários (24 do sexo feminino e 25 do sexo masculino), no qual se realizaram duas medições de oximetria, com o intervalo de 30 minutos entre cada uma. Este grupo não foi submetido a nenhuma outra etapa do estudo.

Cada um dos grupos da TBS foi composto por uma população de 10 elementos, correspondendo 60% (n=6) a elementos do sexo feminino e 40% (n=4) do sexo masculino. O grupo controlo é composto por 49 elementos, 48,98 % (n=24) do sexo feminino e 51,02% (n=25) do sexo masculino.

Desta forma, a amostra final é composta pelos seguintes grupos:

- *Grupo iTBS (excitatório)* - dez voluntários expostos a estimulação excitatória no córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo;
- *Grupo cTBS (inibitório)* - dez voluntários expostos a estimulação inibitória no córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo;
- *Grupo Placebo*- dez voluntários expostos a estimulação placebo no córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo;
- *Grupo Controlo* - 49 voluntários sujeitos à medição do valor de oximetria de ambos os hemisférios, em dois tempos num intervalo de 30 minutos sem estimulação.

Procedimentos

Após a aprovação do estudo pelas comissões de ética do Centro Hospitalar Cova da Beira (CHCB) e da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior (FCS-UBI), iniciou-se o estudo nas instalações deste último organismo. O estudo decorreu entre Outubro de 2011 e Março de 2012, sendo que a estimulação foi sempre aplicada no período da tarde, entre as 14h e as 19h. No dia prévio à estimulação, foi enviado ao voluntário seleccionado um *e-mail* no qual constavam as regras a seguir na véspera e dia da estimulação (ver anexos). No

dia do estudo, o voluntário era inicialmente convidado a ler atentamente o consentimento informado elaborado de acordo com a Declaração de Helsínquia (ver anexos), devendo em seguida preenchê-lo, caso estivessem de acordo, juntamente com um breve questionário (ver anexos), através do qual a equipa podia confirmar que o indivíduo teria cumprido as regras exigidas. Em seguida, o voluntário era conduzido a uma sala onde se efectuava a medição dos valores de pressão arterial, frequência cardíaca e oxigenação cerebral, para além de um exame físico sumário que incluía auscultação cardíaca e electrocardiograma (ECG) realizada pelo médico da equipa. Depois desta recolha inicial de dados, o voluntário passava para outra sala onde era submetido à estimulação. Aproximadamente 15 a 20 minutos depois, o voluntário era submetido a nova medição dos parâmetros anteriormente referidos.

De forma a facilitar a análise dos resultados obtidos, a cada uma das fases acima referidas foi atribuída a designação: fase pré-TBS, fase TBS e fase pós-TBS, respectivamente. Todos os voluntários foram contactados no período de 24 horas pós estimulação a fim de averiguar se existia algum efeito adverso a relatar.

Medição dos parâmetros em estudo

Para a obtenção dos valores de frequência cardíaca e pressão arterial utilizou-se o medidor automático de pressão arterial MEDEL (Modelo Check 3); os valores apresentados no estudo representam a média de três medições sequenciais em cada uma das fases para cada voluntário. O electrocardiograma foi realizado com o auxílio do electrocardiógrafo SCHILLER (Modelo cardiovit AT-1).

Os valores de oxigenação cerebral foram obtidos com o auxílio do aparelho EQUANOX™, Model 7600 Regional Oximeter System with EQUANOX Classic™ Sensor, Model 8000CA, que faz a medição da oxigenação cerebral através do balanço entre a hemoglobina oxigenada e desoxigenada no córtex cerebral (22), ou seja, faz uma medição indirecta da concentração de O₂ nos tecidos subjacentes. Esta medição é feita através de um sistema de infravermelhos (*Near-infrared spectroscopy* - *NIRS*). A sua tecnologia permite que as alterações da saturação devidas aos movimentos se tornem clinicamente irrelevantes e que a área da região frontal onde o sensor é colocado não tenha influência significativa nos valores de oxigenação (23, 24). Neste estudo, o valor de oxigenação foi medido através de dois sensores colocados na região frontal, correspondendo um ao córtex esquerdo e outro ao córtex direito, e registou-se os valores aos zero segundos, 60 segundos, 90 segundos e 180 segundos, tendo-se depois feito um cálculo da média dos quatro valores, que assumimos como o valor final do período decorrido. O valor de prova assim obtido representa a média da variação da oxigenação ao longo de um curto período de tempo (3 minutos).

Método TBS

Para a aplicação do método TBS utilizou-se um estimulador magnético MagVenture MagPro® G3 X100 5.0.1, com uma bobine tipo borboleta, com indução da corrente no sentido pósterio-anterior (25). O registo das respostas motoras necessário para a localização do ponto de estimulação foi obtido no músculo abdutor curto do polegar direito (APBd), através do electromiografo Dantec™Keypoint® - Keypoint.net v.2.03. A estimulação TBS foi realizada sobre o córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo (CPFDLE), em zona 5 cm anterior à área motora primária esquerda, previamente definida (26). A intensidade utilizada foi de 80% do valor do limiar motor activo (LMA), definida como a intensidade mínima da estimulação para a qual existe uma resposta motora de pelo menos 150µV em 5 ou mais de 10 estímulos, enquanto o sujeito se encontra em contracção mínima do APBd (9) .

No protocolo utilizado, a estimulação TBS consistiu em séries agrupadas de três pulsos a 50Hz, aplicadas de forma repetitiva em intervalos de 200ms (5Hz). No grupo iTBS, as séries foram aplicadas em surtos com duração de 2 segundos, com intervalos de 8 segundos sem estimulação, totalizando um período de estimulação de 600 pulsos. Em relação ao grupo cTBS, as séries surgiam continuamente a 5Hz, até completarem 600 pulsos (8). Por sua vez, no grupo placebo, utilizou-se a mesma bobine e os mesmos protocolos, mas a bobine foi colocada num ângulo perpendicular sobre o crânio do voluntário de forma a não induzir estimulação cerebral, mantendo as características associadas ao estímulo (26).

Métodos estatísticos

Os dados obtidos no estudo foram estatisticamente tratados no programa estatístico IBM SPSS Statistics 20. Inicialmente efectuou-se uma análise descritiva dos dados obtidos recorrendo-se ao cálculo das médias, desvios padrões, mínimo e máximo para cada parâmetro e para cada uma das fases, pré- TBS e pós- TBS. Em seguida procedeu-se a uma análise inferencial com testes de hipóteses para comparação de médias: teste t de Student para amostras emparelhadas, ANOVA simples e a ANOVA de medidas repetidas. Sempre que o grupo controlo foi incluído numa análise de variância, esta passou a ser não balanceada, pois o número de indivíduos neste grupo é muito superior ao dos restantes grupos. Consequentemente, foi necessário utilizar médias ponderadas neste tipo de análise. Para as múltiplas comparações recorreu-se aos testes de Tukey Hsd (devidamente corrigido com a média harmónica das dimensões dos grupos, sempre que a ANOVA fosse não balanceada), Sidak, Gabriel e Dunnett. Os pressupostos de normalidade, homogeneidade das variâncias e

da esfericidade, quando aplicável, foram verificados respectivamente pelos testes Shapiro-Wilk ou Kolmogorov-Smirnov, Levene e Mauchly. Na aplicação de uma ANOVA e sempre que se verificou a violação do respectivo pressuposto da normalidade, procedeu-se, complementarmente, a uma análise da forma e achatamento da distribuição, recorrendo-se aos coeficientes de assimetria e achatamento de Fisher. É sabido que a violação do pressuposto da normalidade não impossibilita a utilização de qualquer ANOVA paramétrica, já que estas mostram ser robustas nas circunstâncias referidas (27), em particular quando a distribuição não é marcadamente assimétrica ou excessivamente achatada. Quando se verificou a violação do pressuposto da normalidade do teste t de Student para amostras emparelhadas, recorreu-se ao teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas.

Os testes de hipóteses consideraram-se significativos sempre que o respectivo valor de prova (valor-p ou p) não excedeu 0,05. Os valores de prova ligeiramente superiores a 0,05 (entre 0,05 e 0,07) foram considerados como marginalmente significativos. A metodologia estatística acima referida foi também utilizada nas variáveis secundárias.

Para o tratamento inicial dos dados foi utilizado o programa Microsoft Excel 2010.

Resultados

Resultados da variável principal-Oximetria

Na tabela 1 é possível analisar os valores de média, desvio padrão, máximo e mínimo de cada um dos grupos TBS referentes à oximetria do córtex esquerdo, antes e depois da TBS. Nas tabelas 2 e 3 podemos analisar os mesmos dados em relação ao córtex direito e grupo controlo, respectivamente. É de notar que, para a oximetria do grupo iTBS a dimensão da amostra, ao contrário dos outros grupos, é igual a 9, devendo-se isto ao facto de o oxímetro utilizado no estudo ter apresentado uma avaria nesse dia, impossibilitando a medição fiável deste parâmetro. Na tabela 4 podemos comparar as médias dos valores de oximetria pré-TBS com a primeira medição do grupo controlo para ambos os córtices.

Tabela 1 Estudo descritivo da oximetria do córtex esquerdo.

Grupo	Momento da avaliação	N	Média	Desvio padrão (DP)	Mínimo	Máximo
iTBS (excitatório)	Pré- TBS	9	73,03	4,24	67,75	79,00
	Pós- TBS	9	74,33	3,65	68,75	79,75
cTBS (inibitório)	Pré- TBS	10	73,08	1,81	71,50	76,00
	Pós- TBS	10	69,95	4,34	63,75	77,00
Placebo	Pré- TBS	10	71,93	3,89	65,00	77,50
	Pós- TBS	10	72,90	4,80	67,25	80,25

Tabela 2 Estudo descritivo da oximetria do córtex direito.

Grupo	Momento da avaliação	N	Média	Desvio padrão (DP)	Mínimo	Máximo
iTBS (excitatório)	Pré- TBS	9	74,28	3,55	67,50	78,75
	Pós- TBS	9	74	3,46	66,75	78,75
cTBS (inibitório)	Pré- TBS	10	73,10	4,36	66,75	81,00
	Pós- TBS	10	70,50	3,67	63,25	74,25
Placebo	Pré- TBS	10	73,85	3,83	66,75	80,00
	Pós- TBS	10	71,45	5,022	61,25	79,00

Tabela 3 Estudo descritivo da oximetria do grupo controle.

Córtex	Momento da Avaliação	N	Média	Desvio Padrão (DP)	Mínimo	Máximo
Esquerdo	1º Medição	49	69,8756	6,71314	49,25	83,00
	2º Medição	49	69,2959	5,99342	51,50	80,75
Direito	1º Medição	49	70,8673	7,77635	48,50	88,25
	2º Medição	49	70,4694	6,34832	57,50	90,00

Tabela 4 Comparação entre as médias da fase pré- TBS e da 1ª medição do grupo controle.

	Indivíduos sujeitos a TBS (valores pré TBS)	Indivíduos não sujeitos a TBS (grupo Controle)
N	29	49
Córtex esquerdo	72,66	69,87
Córtex direito	73,72	70,87

Em seguida foi verificada a normalidade para cada um dos parâmetros, de forma a averiguar se seria possível utilizar os testes paramétricos. Verificou-se então que esta não estava presente nos parâmetros “oximetria pré-TBS do córtex esquerdo” e “oximetria pós-TBS do córtex direito” do grupo cTBS. Em relação ao primeiro caso, verificou-se que a distribuição não é normal (teste de Shapiro-Wilk com $p=0,011$); no entanto, existia uma assimetria ou achatamento não acentuados (coeficiente de assimetria igual a 0,966 (EP=0,687) e coeficiente de achatamento igual a -0,860 (EP=1,334)). No segundo caso verificou-se que a violação do pressuposto da normalidade (teste de Shapiro-Wilk com $p=0,042$) se devia à existência de um outlier, implicando uma maior assimetria da distribuição (coeficiente de assimetria igual a -1,241 (EP = 0,687)), mas apresentando um achatamento similar ao da distribuição normal (coeficiente de achatamento igual a 0,585 (EP=1,334); se o outlier for retirado, este grupo já não viola o pressuposto da normalidade (teste de Shapiro-Wilk com $p=0,067$). Por precaução, nestes dois grupos (que não apresentam uma assimetria acentuada) utilizamos o teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas para verificarmos se os resultados são consistentes com os que resultam da utilização do teste t de Student para amostras emparelhadas (tabelas 5 e 6).

O teste t de Student para amostras emparelhadas, tal como o teste de Wilcoxon, mostrou a existência de significância estatística entre os valores de oximetria pré e pós estimulação no córtex esquerdo para o grupo que realizou cTBS ($p=0,022$) e valores de p marginalmente significativos para o córtex direito no grupo cTBS e no grupo placebo ($p=0,068$ e $p=0,064$, respectivamente) (tabela 5). Para os restantes grupos não se verificou significância estatística entre os valores de oximetria pré e pós estimulação do córtex esquerdo e direito. Os valores referentes ao grupo controle para este teste estão apresentados na tabela 6.

Tabela 5 Testes t de Student da oximetria de ambos os córtices.

Grupo	Par	Média das diferenças	Teste t-Student p	Teste de Wilcoxon p
iTBS	OXIESQ_pós -	1,30556	0,540	0,513
	OXIESQ_pré			
	OXIDRT_pós -	-,30556	0,811	0,440
	OXIDRT_pré			
cTBS	OXIESQ_pós -	-3,12500	0,022	0,037
	OXIESQ_pré			
	OXIDRT_pós -	-2,60000	0,068	0,066
	OXIDRT_pré			
Placebo	OXIESQ_pós -	,97500	0,598	0,799
	OXIESQ_pré			
	OXIDRT_pós -	-2,40000	0,064	0,059
	OXIDRT_pré			

Tabela 6 Teste t de Student do grupo controlo ¹

	Média das diferenças	Teste t-Student p	Teste de Wilcoxon p
Córtex esquerdo	-0, 579	0,458	0,327
Córtex direito	-0,397	0,584	0,662

¹ Par = 2º medição - 1º medição

Para compararmos as médias dos quatro grupos em cada momento (pré-TBS e pós-TBS) utilizamos uma ANOVA simples e para compararmos as diferenças entre esses dois momentos e a interação com os quatro grupos utilizamos uma ANOVA das medidas repetidas para cada um dos córtices. Em relação ao córtex esquerdo a ANOVA simples mostrou que na fase pré-TBS as médias da oximetria dos quatro grupos não são estatisticamente diferentes ($p=0,173$), enquanto na fase pós-TBS já se encontrou diferença significativa ($p=0,012$) (tabela 7). As múltiplas comparações mostram que a significância encontrada deve-se à diferença entre o grupo controlo e o grupo iTBS (Turkey HSD com $p=0.039$; Gabriel com $p=0,026$; Dunnett com $p=0,012$) (tabela 8). Em particular, permite-nos concluir que a média do grupo iTBS é significativamente superior à do grupo controlo (média das diferenças igual a 5,0374) na fase pós-TBS; o teste mostra-nos também um resultado marginalmente significativo entre os grupos controlo e placebo nesta mesma fase ($p=0,06$) sendo a média do grupo placebo

superior à do grupo controlo (média das diferenças igual a 3,654). A análise entre grupos com a ANOVA das medidas repetidas (comparação dos grupos com as médias das duas fases) reforçou estas conclusões ($p=0,034$). No entanto, as múltiplas comparações no contexto desta última análise somente permitiram inferir que a média da oximetria do grupo iTBS é significativamente superior à respectiva média do grupo controlo (Sidak com $p=0,04$). Previsivelmente, a pequena dimensão dos grupos não possibilitou que os testes de múltiplas comparações mostrassem suficiente sensibilidade para encontrarem outras diferenças significativas.

Tabela 7 Resultados da ANOVA simples do Córtex Esquerdo.

Teste	Interacção	p
Efeito entre grupos	OXIESQ_pré TBS	0,173
	OXIESQ_pós TBS	0,012

Tabela 8 Significância dos testes de múltiplas comparações na fase pós-TBS do córtex esquerdo.

	Par	Turkey HSD p	Gabriel p	Dunnett p
Múltiplas Comparações	iTBS- cTBS	0,312	0,326	
	iTBS- Placebo	0,999	0,992	
	iTBS- Controlo	0,039	0,026	0,012
	cTBS- Placebo	0,569	0,713	
	cTBS- Controlo	0,999	0,999	0,689
	Placebo-Controlo	0,121	0,166	0,060

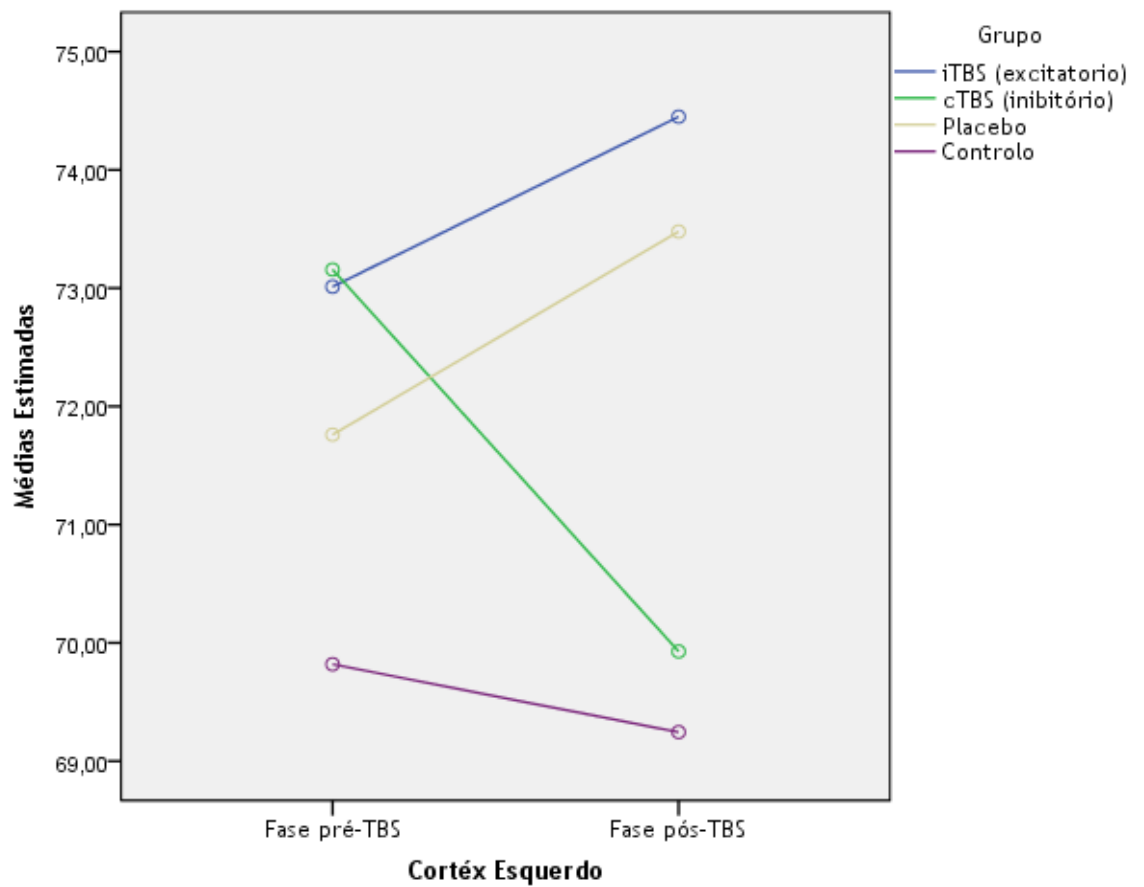


Gráfico 1 Médias marginais estimadas da oximetria nas fases pré e pós TBS para o córtex esquerdo.

Relativamente ao córtex direito, a ANOVA simples mostra que não existem diferenças significativas entre os grupos em ambas as fases ($p=0,127$ e $p=0,252$, respectivamente), mostrando assim igualdade entre os grupos; obtendo-se a mesma conclusão quando se aplica a ANOVA das medidas repetidas ($p= 0,154$).

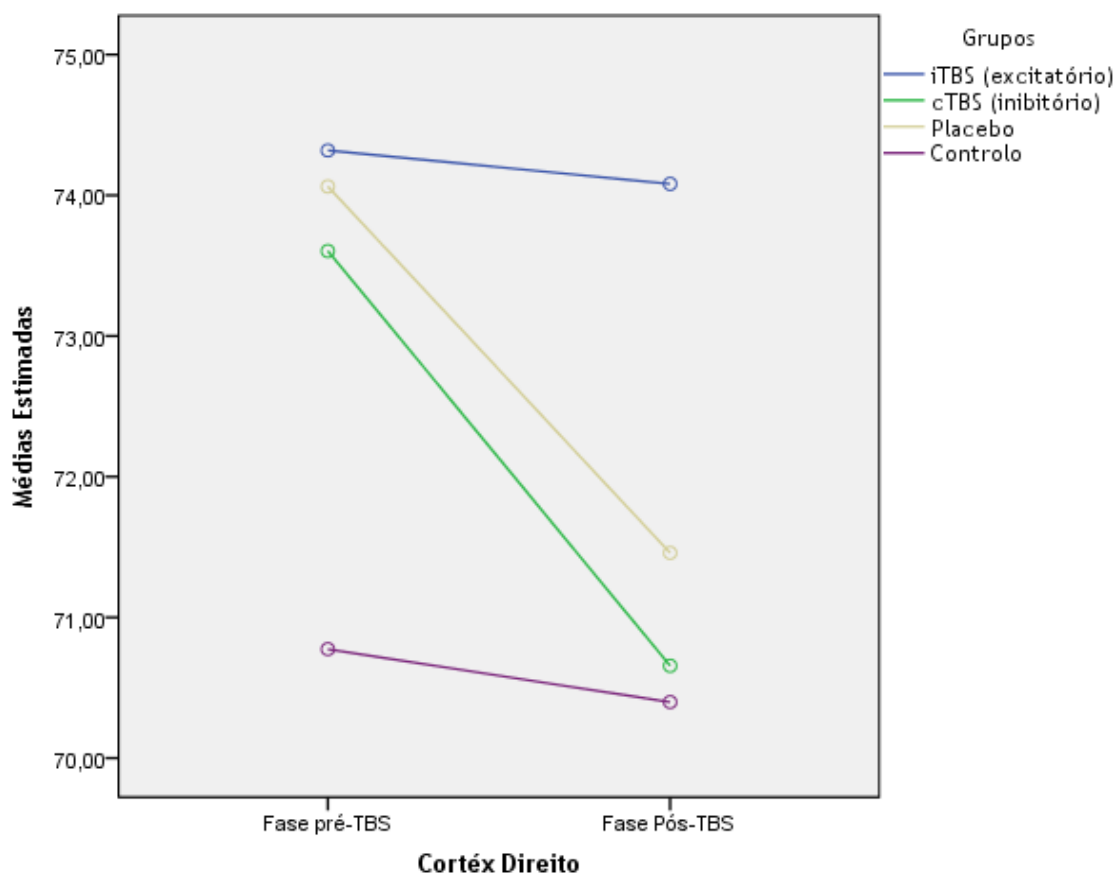


Gráfico 2 Médias marginais estimadas da oximetria nas fases pré e pós TBS para o córtex direito.

Resultados das variáveis secundárias - Pressão arterial e Frequência cardíaca

Para a análise destas variáveis calcularam-se os valores médios, desvios padrões, mínimos e máximos para cada um dos grupos, antes e depois da TBS. Dada a existência de valores normativos para estas variáveis na literatura (28), não houve necessidade de criar um grupo controlo semelhante ao criado para a variável oximetria, existindo assim apenas 3 grupos de estudo para estas variáveis (Tabela 9).

Tabela 9 Estudo descritivo das variáveis pressão arterial e frequência cardíaca

Grupo	Pa e FC	Momento da medição	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão (DP)
iTBS	Sistólica	Pré-TBS	101	146	121,70	13,60
		Pós-TBS	91	140	123,20	13,76
	Diastólica	Pré-TBS	64	95	76,70	10,30
		Pós-TBS	58	82	74,60	7,0
	Freq. Cardíaca	Pré-TBS	61	90	75,50	8,91
		Pós-TBS	55	85	74,50	9,17

cTBS	Sistólica	Pré-TBS	97	148	128,10	15,32
		Pós-TBS	113	155	130,50	14,42
	Diastólica	Pré-TBS	65	92	81,10	8,12
		Pós-TBS	73	94	82,20	7,22
	Freq. Cardíaca	Pré-TBS	64	87	76,80	7,54
		Pós-TBS	59	92	74,70	10,06

Placebo	Sistólica	Pré-TBS	85	130	119,70	13,55
		Pós-TBS	99	153	125,10	15,98
	Diastólica	Pré-TBS	69	92	81,70	8,59
		Pós-TBS	57	92	81,10	9,92
	Freq. Cardíaca	Pré-TBS	64	105	78,20	13,83
		Pós-TBS	56	96	75,5	15,69

Para estas variáveis não se verificou qualquer violação do pressuposto de normalidade. De seguida, foi realizada uma análise inferencial semelhante à que foi realizada para a variável principal. Para estas variáveis secundárias, com o teste t de Student para amostras emparelhadas, não se encontrou significância estatística em qualquer dos grupos (Tabela 10); analogamente, não se encontrou qualquer significância quando utilizada uma

ANOVA simples ou de medidas repetidas para as variáveis secundárias, isto é, os três grupos não apresentam diferenças significativas entre eles em ambas as fases (tabela 11).

Tabela 10 Teste t de Student para a pressão arterial e frequência cardíaca

Grupo	Par	Média das diferenças	p
iTBS	Psistólica_pós - Psistolica_pré	1,5	0,673
	Pdiastolica_pós - Pdiastolica_pré	-2,1	0,426
	FC_pós - FC_pré	-1	0,582
cTBS	Psistólica_pós - Psistolica_pré	2,4	0,411
	Pdiastolica_pos - Pdiastolica_pré	1,1	0,628
	FC_pós - FC_pré	-2,1	0,254
Placebo	Psistólica_pós - Psistolica_pré	5,4	0,090
	Pdiastolica_pos - Pdiastolica_pré	-0,6	0,859
	FC_pós - FC_pré	-2,7	0,352

Tabela 11 Resultados da Anova Simples para as variáveis secundárias

	Valor-p do efeito entre grupos	
	Pré-TBS	Pós-TBS
Pressão sistólica	0,397	0,525
Pressão diastólica	0,414	0,098
Frequência Cardíaca	0,847	0,981

Há ainda a referir que o estudo qualitativo dos electrocardiogramas realizados não mostrou qualquer alteração. No contacto realizado às 24 horas após o estudo, os indivíduos não relataram efeitos adversos.

Discussão

No nosso estudo, a utilização de uma sessão de estimulação magnética transcraniana inibitória originou uma redução significativa da oximetria no córtex ipsilateral e marginalmente significativa no córtex contralateral. A estimulação excitatória produziu aumento do valor de oximetria ipsilateral, embora não significativo; entretanto, nenhum dos processos afectou a pressão arterial e frequência cardíaca.

Discussão da variável principal - Oximetria

Da revisão actualizada da literatura, apenas um único trabalho estudou a relação entre a oximetria e a TBS (uma só variante - cTBS) aplicada ao CPFDLE: o estudo de *Tupak et al*, realizado em 2011, que concluiu que a cTBS quando aplicada a esta região é capaz de diminuir a oxigenação do córtex pré-frontal bilateralmente (13), achado corroborado pelo nosso estudo em relação ao córtex estimulado, mas não em relação ao córtex contralateral. Um outro trabalho no qual se relacionou a cTBS e a oxigenação foi o de *Mochizuki et al*, que aplicaram cTBS a outras áreas do HE diferentes da CPFDLE, tendo verificado que nas áreas contra laterais houve uma diminuição da oxigenação (14).

Assim, os resultados atingidos no nosso estudo, no grupo cTBS, estão parcialmente de acordo com os disponíveis na literatura. Os resultados do córtex esquerdo podem ser explicados pela acção fisiológica que a cTBS exerce nos neurónios, pois tende a diminuir a actividade neuronal (7, 8, 29) e consequentemente o metabolismo, havendo assim uma menor necessidade de aporte de oxigénio à área estimulada, traduzida pela diminuição da oxigenação. Em relação ao efeito da cTBS no córtex direito, tendo em conta a literatura existente, esperava-se uma diminuição significativa da oxigenação (13, 14), no entanto apenas se atingiram valores marginalmente significativos, embora seguindo a tendência esperada. Neste último caso, os dados possivelmente são explicados pelo pequeno número de sujeitos. No entanto, existe ainda a hipótese de os dados se deverem à relação entre a hiperactividade do córtex pré-frontal direito e o aumento da ansiedade, relatada em alguns estudos sobre a relação entre as emoções e a actividade cerebral (30). No seu estudo com cTBS *Tupak et al* aplicaram escalas de ansiedade aos seus sujeitos, verificando que os indivíduos se apresentaram menos ansiosos após a estimulação (13). No nosso estudo, a análise da tabela 4 mostra-nos que os indivíduos do grupo controlo apresentavam, em termos

médios, valores mais baixos de oxigenação do que os valores pré-TBS dos indivíduos sujeitos à estimulação, o que poderia sugerir algum efeito da ansiedade no grupo estimulado por antecipação do processo. Apesar dos dados apresentados, não nos é possível concluir sobre o real efeito da cTBS no córtex contra lateral, pois no nosso estudo não foram aplicadas escalas de ansiedade e os restantes dados não são suficientes para inferir conclusões.

A significância estatística encontrada para o grupo cTBS é também concordante com os resultados obtidos em outros parâmetros avaliados neste estudo, mas não apresentados neste trabalho, nomeadamente a actividade neuronal (P300) e a avaliação neuropsicológica (29, 31), pois em ambos os parâmetros verificou-se uma diminuição significativa, reforçando assim a possibilidade da cTBS efectivamente promover a diminuição da actividade neuronal.

No grupo iTBS apesar de não se ter encontrado um aumento estatisticamente significativo da oxigenação cerebral no córtex estimulado, a tendência para o aumento da média (gráfico 1) e a diferença encontrada no teste de Dunnett (tabela 8), leva-nos a crer que perante uma amostra maior poderíamos ter um aumento significativo da oxigenação ipsilateral à zona de estimulação. O efeito facilitador da técnica sobre a actividade neuronal descrito por *Huang et al* e por *Cárdenas-Morales et al* (8, 12), poderia justificar um aumento do valor de oxigenação ao causar aumento do metabolismo, com consequente aumento do aporte de O₂ à região estimulada. Em relação ao efeito da iTBS sobre o córtex direito, os resultados atingidos não são conclusivos. Não foram encontrados dados na literatura referentes ao efeito da iTBS no córtex contra lateral à estimulação. Poderá não haver nenhum efeito, ou este ser menor, necessitando de um grupo maior de voluntários para ser observado.

Discussão das variáveis secundárias - Pressão arterial e Frequência cardíaca

Em relação à pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) as variações das médias não se mostraram estatisticamente significativas. É ainda de referir que independentemente do momento da medição, em termos médios, os valores de PA e FC se mantiveram dentro dos valores recomendados pelas *guidelines* internacionais (28).

Na pesquisa bibliográfica efectuada não se encontraram estudos que analisassem os efeitos da TBS aplicada ao CPFLE sobre a PA e FC, tornando o nosso estudo pioneiro em relação a este ponto. Num estudo no qual se aplicou iTBS ao cerebelo, verificou-se diminuição significativa da FC, sem alterações da PA (10).

De forma a encontrar fontes para comparação, procuraram-se estudos que relacionassem a EMTr e o SNA, nos quais estudassem a FC e a PA. Desta forma, verificou-se

concordância entre os nossos achados e os de *Sibon et al*, que também não encontraram alterações significativas na FC e PA após a aplicação de rTMS excitatória (10Hz) sobre o CPFDLE (32). Outros estudos defendem que existe uma correlação entre a rTMS e o SNA, como por exemplo o estudo do *Yoshida et al*, que concluíram que a rTMS inibitória (0,2Hz) aplicada à região do vértex, provoca uma estimulação transitória do sistema nervoso simpático, e de *Vernieri et al* que concluíram que a estimulação excitatória (17Hz) aplicada ao córtex motor primário do hemisfério dominante provoca alterações na hemodinâmica do cérebro por alteração no SNA (33, 34). Por sua vez, *Foerster et al* verificaram que a aplicação de rTMS a 20Hz sobre várias áreas do cérebro promove o aumento da FC e a diminuição da PA, mas concluíram que estas alterações estão relacionadas com uma reacção excitatória não especificada e não com efeitos da EMTr sobre o SNA (35). A discrepância dos resultados encontrados na literatura pode ser explicada pelas diferentes técnicas de estimulação magnética (variação nas frequências e na duração) e pelos diferentes locais estimulados usados pelos diversos autores, não nos permitindo concluir sobre o real efeito da rTMS na PA e FC.

A inexistência de significância estatística no nosso estudo levam-nos a acreditar que a TBS no CPFDLE não produz alterações nestes parâmetros fisiológicos, fortificando assim a tese de técnica segura corroborada por *Huang et al* (8), no entanto são necessários mais estudos que visem estas variáveis, nos quais sejam estudados grupos maiores de voluntários.

Conclusões e Limitações do Estudo

A TBS é uma técnica passível de induzir alterações fisiológicas e electrofisiológicas rápidas consistentes e controladas no tecido neuronal humano. Neste estudo verificou-se que após uma sessão única com TBS, o padrão cTBS, quando aplicada ao CPFDLE, é capaz de induzir a diminuição da oxigenação cerebral no lobo frontal ipsilateral. Estes achados levam-nos a sugerir que a cTBS efectivamente diminui a actividade neuronal e consequentemente o seu metabolismo, levando à diminuição do aporte de oxigénio à área estimulada. A variação da média do grupo iTBS e o facto do seu resultado ser significativamente diferente do grupo controlo na fase pós-TBS, leva-nos a crer que perante uma amostra maior poderíamos ter um aumento da oxigenação na área estimulada, efectivamente devido a um aumento do aporte de O₂ a essa região em resposta ao aumento do metabolismo neuronal. Este estudo revelou ainda que numa população normal com idades compreendidas entre os 18 e os 30 anos, não sujeita a TBS, a variação da oxigenação cerebral num intervalo de 30 minutos não é significativa.

O estudo da FC e PA nos indivíduos submetidos a cTBS e iTBS não apresentou alterações significativas, contribuindo assim para consolidar parâmetros de segurança da técnica.

Tanto quanto conseguimos averiguar, o nosso estudo foi o primeiro trabalho sobre TBS a ser realizado em Portugal; sendo que, a nível internacional, parece ser o primeiro a estudar de forma simultânea o efeito dos dois protocolos da TBS sobre o CPFDLE na oxigenação, assim como sobre a PA e FC.

A importância deste estudo reflecte-se no facto da TBS representar um promissor método de estudo da condutividade cerebral em indivíduos saudáveis ou com patologia psiquiátrica e neurológica, e um possível meio terapêutico de manipulação da plasticidade cerebral. Tendo o nosso estudo sido realizado sobre o CPFDLE, comprovadamente associado ao controle do comportamento e a patologias psiquiátricas/neurológicas, a TBS ao mostrar induzir alterações nesta região, pode eventualmente melhorar os meios de diagnóstico e tratamento actualmente existentes para patologias desta região.

Este estudo teve como principais limitações o pequeno número de participantes, a carência de estudos da dinâmica do FSC e do metabolismo neuronal e a não aplicação de escalas de ansiedade. Desta forma sugere-se que nos próximos estudos se utilizem grupos com maior número de indivíduos e se apliquem escalas de ansiedade antes e depois da

estimulação. Propõe-se também que sejam realizadas novas investigações nas quais se estude, em simultâneo, a resposta do metabolismo, do FSC e da oxigenação à TBS, usando, por exemplo, ressonância magnética funcional ou PET.

Bibliografia

1. Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet*. 1985 May 11; 1(8437):1106-7.
2. Wasserman E, Epstein CM, Ziemann U. The Oxford handbook of transcranial stimulation. Oxford handbooks series. New York: Oxford University Press; 2008. Section I: Physics and Biophysics of TMS; p. 3-74.
3. Kobayashi M, Pascual-Leone A. Transcranial magnetic stimulation in neurology. *Lancet Neurol*. 2003 Mar;2(3):145-56.
4. Chen R, Cros D, Curra A, Di Lazzaro V, Lefaucheur JP, Magistris MR, et al. The clinical diagnostic utility of transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee. *Clin Neurophysiol*. 2008 Mar;119(3):504-32
5. Saitoh Y. Validation and the future of stimulation therapy of the primary motor cortex. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2012 Jul; 52(7):451-6.
6. Speer AM, Willis MW, Herscovitch P, Daube-Witherspoon M, Shelton JR, Benson BE, et al. Intensity-dependent regional cerebral blood flow during 1-Hz repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in healthy volunteers studied with H215O positron emission tomography: I. Effects of primary motor cortex rTMS. *Biol Psychiatry*. 2003 Oct 15;54(8):818-25.
7. Zafar N, Paulus W, Sommer M. Comparative assessment of best conventional with best theta burst repetitive transcranial magnetic stimulation protocols on human motor cortex excitability. *Clin Neurophysiol*. 2008 Jun;119(6):1393-9.
8. Huang YZ, Edwards MJ, Rounis E, Bhatia KP, Rothwell JC. Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron*. 2005 Jan 20;45(2):201-6.
9. Di Lazzaro V, Dileone M, Profice P, Oliviero A, Mazzone P, et al. The physiological basis of the effects of intermittent theta burst stimulation of the human motor cortex. *J Physiol*. 2008 Aug 15;586(16):3871-9.

10. Demirtas-Tatlidede A, Freitas C, Pascual-Leone A, Schmahmann JD. Modulatory effects of theta burst stimulation on cerebellar nonsomatic functions. *Cerebellum*. 2011 Sep;10(3):495-503.
11. 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 Jul 2;61(3):599-605.
12. Cardenas-Morales L, Gron G, Kammer T. Exploring the after-effects of theta burst magnetic stimulation on the human motor cortex: a functional imaging study. *Human brain Mapp*. 2011 Nov;32(11):1948-60.
13. Tupak SV, Dresler T, Badewien M, Hahn T, Ernst LH, Herrmann MJ, et al. Inhibitory transcranial magnetic theta burst stimulation attenuates prefrontal cortex oxygenation. *Human brain Mapp*. 2013 Jan;34 (1):150-7.
14. Mochizuki H, Furubayashi T, Hanajima R, Terao Y, Mizuno Y, Okabe S, et al. Hemoglobin concentration changes in the contralateral hemisphere during and after theta burst stimulation of the human sensorimotor cortices. *Exp Brain Res*. 2007 Jul;180(4):667-75.
15. Guyton AC, Hall JE. *Tratado de Fisiologia Médica*. 11º ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006. Capítulo 61, Fluxo Sanguíneo Cerebral, Líquido Cefalorraquidiano e Metabolismo Cerebral; p. 761-8.
16. Martins I. Funções Cognitivas. In: Ferro J, Pimentel J. *Neurologia- Princípios, Diagnóstico e Tratamento*. 1º Edição ed. Lisboa-Porto: Lidel;2006.
17. Purves D, Augustine G, Fitzpatrick D, Katz L, LaMantia AS, McNamara J, Williams M. *Neuroscience*. 4th ed. Sunderland: Sinauer; 2008. Appendix, Survey of human anatomy, p. 815-42.
18. Fuster J. *The prefrontal cortex*. 4th ed. China: Elsevier; 2008. Chapter 2, Anatomy of pre frontal cortex, p. 7- 42.
19. Guse B, Falkai P, Wobrock T. Cognitive effects of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation: a systematic review. *J Neural Transm*. 2010 Jan;117(1):105-22.

20. Kito S, Fujita K, Koga Y. Changes in regional cerebral blood flow after repetitive transcranial magnetic stimulation of the left dorsolateral prefrontal cortex in treatment-resistant depression. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2008 Winter;20(1):74-80.
21. Purves D, Augustine G, Fitzpatrick D, Katz L, LaMantia AS, McNamara J, Williams M. *Neuroscience*. 4th ed. Sunderland: Sinauer; 2008. Chapter 21, The visceral motor system, p. 815-42.
22. Nonin Medical, Inc. Model 7600 regional oximetry system The next Generation in Regional Oximetry Monitoring [Panfleto]. Minnesota: Nonin Medical, Inc; 2009. Disponível em: http://www.noninequanox.com/Documents/7213-001-03_7600_Spec_Sheet_Classic.pdf.
23. Lobbstaël A, Roth L, Prior M. Equanox Technology with Dual Emitter-Dual Detector Cancels Surface and Shallow Tissue Variation When Measuring Cerebral Oxygenation. Minnesota: Nonin Medical Inc. 2009
Disponível em: <http://www.nonin.com/presskit/equanox/documents/Cerebral-Repeatability-Study-M2709.pdf>.
24. Keunen R, Falsafi A, Van Alphen J, Tavy DL. Continuous Cerebral Oximetry Patient Monitoring During Post-Operative Transport Identifies Desaturation. Minnesota: Nonin Medical Inc. 2009.
Disponível em: http://www.noninequanox.com/Documents/EQUANOX_Case_Report_Postoperative_Transport.pdf
25. Rossi S, Rossini P, Pascual-Leone A, The Safety of TMS Consensus Group. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin Neurophysiol*. 2009;120:2008-39.
26. 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 Jan;35(3):516-36.
27. Maroco J. *Análise Estatística com utilização do SPSS*. 3 ed. Lisboa: Edições Sílabo; 2007.
28. Mancia G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, Grassi G, Heagerty A, Kjeldsen S, Laurent S, Narkiewicz K, Ruilope L, Rynkiewicz A, Schmieder R, Harry A, Boudier S, Zanchetti A. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2007 Jun;28(12):1462-536.

29. Pinto N. 2012 (in print).
30. Phan KL, Wager TD, Taylor SF, Liberzon I. Functional neuroimaging studies of human emotions. *CNS spectrums*. 2004 Apr;9(4):258-66.
31. Duarte M. Estudo das respostas neuropsicológicas associadas á utilização de campos magnéticos cerebrais no córtex pré-frontal em sujeito normais [Mestrado].Covilhã: Universidade da Beira Interior; 2012.
32. Sibon I, Strafella AP, Gravel P, Ko JH, Booij L, Soucy JP et al. Acute prefrontal cortex TMS in healthy volunteers: effects on brain 11C-alphaMtrp trapping. *Neuroimage*. 2007 Feb 15;34(4):1658-64.
33. Yoshida T, Yoshino A, Kobayashi Y, Inoue M, Kamakura K, Nomura S. Effects of slow repetitive transcranial magnetic stimulation on heart rate variability according to power spectrum analysis. *J Neurol Sci*. 2001 Feb 15;184(1):77-80.
34. Vernieri F, Maggio P, Tibuzzi F, Filippi MM, Pasqualetti P, Melgari JM, et al. High frequency repetitive transcranial magnetic stimulation decreases cerebral vasomotor reactivity. *Clin Neurophysiol*. 2009 Jun;120(6):1188-94.
35. Foerster A, Schmitz JM, Nouri S, Claus D. Safety of rapid-rate transcranial magnetic stimulation: heart rate and blood pressure changes. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1997 May;104(3):207-12.

Anexos

I- Parecer da comissão de ética do CHCB

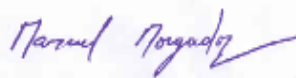
**PARECER N.º 30/2011 DA COMISSÃO DE ÉTICA DO
CENTRO HOSPITALAR DA COVA DA BEIRA, EPE**

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)

II- Parecer da Comissão de ética da FCS-UBI



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”* –
Prof.^ª 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

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 projecto, 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 epiléticas ☐

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, actualmente, 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 (caféina, 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 dormiur 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 álccol 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 projecto 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 hemicorpo 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 jóias 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 directa ou indirectamente 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- Certificado de participação no congresso: “1st research Coimbra in Health Sciences”

