

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica

Isabella Araújo Mota

***Bereitschaftspotential* relacionado ao piscamento palpebral em
sujeitos normais e parkinsonianos nos períodos *Off* e *On***

Recife

2014

Isabella Araújo Mota

***Bereitschaftspotential* relacionado ao piscamento palpebral em
sujeitos normais e parkinsonianos nos períodos *Off* e *On***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade
Federal de Pernambuco, para a obtenção do Título de
Mestre em Inovação Terapêutica.

Orientador:

Prof. Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira

Coorientador:

Prof. Dr. Otavio Gomes Lins

Recife

2014

Catálogo na Fonte:

Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Mota, Isabella Araújo

Bereitschaftspotential relacionado ao piscamento palpebral em sujeitos normais e parkinsonianos nos períodos Off e On / Isabella Araújo Mota. – Recife: O Autor, 2014.

150 folhas: il.

Orientadores: Dinaldo Cavalcanti de Oliveira, Otavio Gomes Lins

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica, 2014.

Inclui bibliografia e anexos e apêndices

- 1. Sistema nervoso central – Doenças 2. Parkinson, Doença de I. Oliveira, Dinaldo Cavalcanti (orient.) II. Lins, Otavio Gomes (coorient.) III. Título.**

616.83

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2014-132

MOTA, I.A.	<i>Bereitschaftspotential</i> relacionado ao piscamento palpebral em sujeitos normais e parkinsonianos nos períodos <i>Off</i> e <i>On</i>	2,5 cm espaço reservado para etiqueta de localização	Mestrado PPGITUFPE 2014
------------	--	--	-------------------------------

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Profa. Maria Eduarda Lacerda de Larrazábal

VICE- DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Profa. Oliane Maria Correia Magalhães

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

Prof. César Augusto Andrade

VICE- COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

Prof. Luiz Alberto Lira Soares

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: ARAUJO MOTA, Isabella

Título: *Bereitschaftspotential* relacionado ao piscamento palpebral em sujeitos normais e parkinsonianos nos períodos *Off* e *On*.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Inovação Terapêutica

Aprovada em: 11/04/2014

Banca Examinadora

Prof (a). Dr. Moacyr Jesus Barreto De Melo Rêgo

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Assinatura:_____

Prof (a). Dr. Maria das Graças Wanderley de Sales Coriolano

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Assinatura:_____

Prof (a). Dr. Nadja Maria Jorge Asano

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Assinatura:_____

Prof. Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Assinatura:_____

Prof. Dr. Otavio Gomes Lins

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Assinatura:_____

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus filhos
que, ainda em meu ventre, me fazem sentir
a magnitude do amor e a grandiosidade da vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Deus que é Pai, Filho e Espírito Santo que caminhou ao meu lado, sendo meu guia, minha força, meu conforto e meu orientador, me ensinando a verdadeira sabedoria da vida.

A meus pais, meus maiores mestres, a fortaleza que me faz acreditar e nunca desistir de lutar pelos meus sonhos. Meus grandes exemplos.

Ao meu marido João que com seu companheirismo, amor e dedicação conseguiu sonhar os meus sonhos.

A meu irmão Victor pela serenidade, carinho e amizade.

Ao amigo e coorientador Dr. Otávio Gomes Lins pela paciência, amizade e por me enriquecer com seu amor pela ciência.

Ao meu orientador Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira pela confiança durante esta fase de crescimento intelectual.

Ao profissionalismo, disponibilidade e amizade da professora Maria das Graças Coriolano que foi essencial ao andamento do estudo.

A todos os que fazem parte do programa Pró-Parkinson, pelo apoio, confiança e incentivo, em especial a técnica de enfermagem Emmeline pela presteza e eficiência.

A todos os pacientes e participantes voluntários que se doaram em prol da ciência, as grandes estrelas desta dissertação.

Aos estudantes Bruna, Ludmila e Rafael pela colaboração nas coletas, equipe essencial a concretização desta pesquisa.

A todos os professores, funcionários e grandes colegas do Programa de Pós Graduação em Inovação terapêutica, em especial ao secretário Paulo Germano, pela disponibilidade e dedicação em todos os momentos, e a professora Suely Galdino (*in memoriam*) pelos conselhos e lições que levarei em meu coração por toda a vida.

Ao Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco por permitir o desenvolvimento da pesquisa em suas dependências.

A todos os meus familiares e amigos que rezaram, torceram e acreditaram na realização desta tão importante etapa.

Enfim meus mais sinceros agradecimentos a todos que direta ou indiretamente participaram da efetivação deste sonho.

“Não é o muito saber que sacia e satisfaz a alma,
mas o sentir e saborear internamente as coisas”

Santo Inácio de Loyola

RESUMO

MOTA, I.A. *Bereitschaftspotential* relacionado ao piscamento palpebral em sujeitos normais e parkinsonianos nos períodos *Off* e *On*. 2014. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

Introdução: O *Bereitschaftspotential* (BP) ou potencial de prontidão é uma onda negativa observada retrogradamente no eletroencefalograma (EEG) precedendo um ato motor. O BP tem sido usado na investigação dos mecanismos corticais de geração do movimento voluntário. A lentificação dos movimentos (bradicinesia) é um dos sinais cardinais da doença de Parkinson (DP). **Objetivos:** Estudar o BP precedendo o piscamento ocular em sujeitos normais e em pacientes com DP durante as fases *Off* (sem levodopa) e *On* (com levodopa). **Métodos:** Foram avaliados 18 sujeitos saudáveis (oito homens) entre 17 e 60 anos (média 35 anos) e 10 pacientes com DP (nove homens) entre 43 e 86 anos (média 58 anos) nos estágios 1 e 2 da escala de Hoehn & Yahr (H&Y). O EEG foi registrado em 11 posições do sistema 10-20 de colocação de eletrodos, em referência aos mastoides interligados. O eletro-oculograma vertical (VEOG) foi registrado por dois eletrodos posicionados acima e abaixo do olho direito. O eletrodo terra foi colocado na clavícula direita. Nos sujeitos normais os registros foram obtidos durante o piscamento palpebral espontâneo e voluntário. Nos pacientes com DP apenas o piscamento voluntário foi analisado e os registros obtidos durante as fases *Off* e *On*. Segmentos do EEG entre três segundos antes e dois segundos após o início do potencial do piscamento (identificado visualmente no canal de VEOG), livres de artefatos, foram promediados *off-line* e analisados em programa dedicado escrito em Matlab. A análise de significância estatística foi feita com modelos de Análise de Variância ANOVA. **Resultados:** Nos sujeitos normais a média do BP iniciou em torno de 1700 ms antes do início do piscamento voluntário, com amplitude média no pico da negatividade de 3.3 μ V. Não se observou BP precedendo o piscamento espontâneo. Nos pacientes com DP, a média do BP iniciou em torno de 1500 ms antes do piscamento voluntário, com amplitude média no pico de negatividade de 0.6 μ V. A média de amplitude do BP não foi significativamente diferente durante as fases *Off* e *On*. **Conclusão:** Este estudo demonstrou a presença de um BP precedendo o piscamento palpebral

voluntário, porém não precedendo ao piscamento palpebral espontâneo. Além disso, dem a presença de um BP com amplitude acentuadamente reduzida precedendo o piscamento voluntário de pacientes com DP nas fases 1 e 2 da escala H&Y. O uso da levodopa não aumentou a amplitude do BP. Estes dados indicam que o BP precedendo o piscamento palpebral é significativamente acometido já nas fases iniciais da DP, independentemente do uso da levodopa.

Palavras-chave: *Bereitschaftspotential*. Doença de Parkinson. Piscamento palpebral. Levodopa. Potencial de prontidão.

ABSTRACT

MOTA, I. A. **Bereitschaftspotential related to eyelid blink in normal and in patients with Parkinson's disease in the *Off* and *On* phases.** 2014. Dissertation (Master). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

Introduction: The Bereitschaftspotential (BP) or readiness potential is a negative wave observed retrogradely in the electroencephalogram (EEG) preceding a motor act. The BP has been used in the investigation of cortical mechanisms of generation of voluntary movement. The slowness of movement (bradykinesia) is one of the cardinal signs of Parkinson's disease (PD). **Objectives:** To study the BP preceding the eye blink in normal subjects and in patients with PD during *Off* (without levodopa) and *On* (with levodopa) phases. **Methods:** 18 healthy subjects (eight males) between 17 and 60 years old (mean 35 years) and 10 patients with PD (nine men) between 43 and 86 years old (mean 58 years) in stages 1 and 2 of the Hoehn & Yahr (H & Y). The EEG was recorded in 11 positions of the 10-20 system of electrode placement, in reference to the linked mastoids. The vertical electro - oculogram (VEOG) was recorded by two electrodes placed above and below the right eye. The ground electrode was placed in the right clavicle. In normal subjects the records were obtained during spontaneous and voluntary eyelid blink. In patients with PD only voluntary blink was examined and the records obtained during *Off* and *On* phases. Segments of EEG from three seconds before and two seconds after the start of the blinking potential (visually identified in VEOG channel), free of artifacts, were averaged and analyzed off- line in dedicated written in Matlab. Analysis of statistical significance was performed with ANOVA analysis of variance models. **Results:** In normal subjects the mean BP began around 1700 ms before the onset of voluntary blink, with the average amplitude of the negative peak of 3.3 μV . No BP was observed preceding the spontaneous blink. In patients with PD, the mean BP began around 1500 ms before the voluntary blink, with average amplitude at peak negativity of 0.6 μV . The mean amplitude of BP was not significantly different during the *Off* and *On* phases. **Conclusion:** This study demonstrated the presence of a BP preceding voluntary eyelid blink, but was absent in the spontaneous blink. Furthermore, described the presence of a BP with markedly reduced amplitude preceding the voluntary eyelid blink of the patients with PD in phases 1 and 2 of H&Y scale. The use of levodopa didn't increase the amplitude of BP. These data indicate that

the preceding eyelid blink BP is significantly affected since the early stages of PD, irrespective of the use of levodopa.

Keywords: Bereitschaftspotential. Parkinson's Disease. Blinking. Levodopa. Readiness Potential.

LISTA DE GRÁFICOS E ILUSTRAÇÕES

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1: Conexões neurais dos gânglios da base e suas vias modulatórias.....	29
Figura 2: Representação esquemática da estrutura molecular da levodopa.....	34
Figura 3: Representação esquemática da estrutura molecular dos inibidores da dopa descarboxilase	33
Figura 4: <i>Bereitschaftspotential</i> precoce e tardio durante extensão do punho esquerdo.....	37

METODOLOGIA

Figura 5: Colocação da touca de EEG (5A) e imagem do polígrafo Neuron-Spectrum. NET da marca Neurosoft (5B).....	44
---	----

RESULTADOS

Capítulo 1: *Bereitschaftspotential* na Doença de Parkinson: um estudo de revisão

Figura 1: Fluxograma da busca e seleção de artigos para a revisão sistemática.....	48
--	----

Capítulo 2: *Bereitschaftspotential* precedendo ao piscamento palpebral espontâneo e voluntário em sujeitos normais

Figura 1: Promediação do EEG registrado em 11 eletrodos (F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4, O1 e O2) no período de 2 segundos precedendo o piscamento voluntário (linha contínua) e espontâneo (linha tracejada) de todos os sujeitos estudados	62
Figura 2: Amplitudes obtidas nos eletrodos C3, Cz e C4 nas latências zero, -500 e 1800 ms precedendo o potencial de piscamento.....	63
Figura 3: Interação entre CONDIÇÃO e LATÊNCIA.....	64
Figura 4: Efeito principal ELETRODO.....	65

Capítulo 3: *Bereitschaftspotential* precedendo o piscamento palpebral na Doença de Parkinson nos períodos *Off* e *On*

BP em pacientes parkinsonianos em fase *Off* e *On*

Figura 1: Promediação geral do EEG registrado em 11 eletrodos (F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4, O1 e O2) no período de 2 segundos precedendo o piscamento voluntário de todos os pacientes em fase *off* e *on* 74

Figura 2: Médias das amplitudes dos potenciais promediados dos pacientes Parkinsonianos nas CONDIÇÕES Off e On, nas LATÊNCIAS zero, -500 e -1800 ms precedendo o início do potencial de piscamento, nos ELETRODOS C3, Cz e C4..... 75

Figura 3: Efeito principal LATÊNCIA..... 76

Comparação entre o BP nos pacientes com DP e nos controles

Figura 4: Promediação do EEG registrado em 11 eletrodos no período de 2 segundos precedendo o piscamento voluntário dos pacientes com DP em fase off e on promediadas e nos controles normais..... 77

Figura 5: Médias das amplitudes dos potenciais promediados nas CONDIÇÕES pacientes com DP em fase Off e On promediadas e controles normais nos LATÊNCIAS zero, -500 e -1800 ms precedendo o início do potencial de piscamento e nos ELETRODOS C3, Cz e C4..... 78

LISTA DE TABELAS

RESULTADOS

Capítulo 1: *Bereitschaftspotential* na Doença de Parkinson: um estudo de revisão

Tabela 1: Tabulação de características dos sujeitos, parâmetros de registro e resultados obtidos dos artigos incluídos na revisão..... 52

Tabela 2: Características do *Bereitschaftspotential* antes e depois da ação da levodopa..... 53

Capítulo 2: *Bereitschaftspotential* precedendo ao piscamento palpebral espontâneo e voluntário em sujeitos normais

Tabela 1: Análise de variância de medições repetidas das amplitudes do potencial pré-motor de sujeitos normais entre CONDIÇÃO, LATÊNCIA e ELETRODO (C3, Cz e C4)..... 63

Tabela 2: Análise post hoc (teste de Newman-Keuls) da interação CONDIÇÃO * LATÊNCIA..... 64

Tabela 3: Análise post hoc (teste de Newman-Keuls) do efeito principal ELETRODO..... 65

Capítulo 3: *Bereitschaftspotential* precedendo o piscamento palpebral na Doença de Parkinson nos períodos *Off* e *On*

BP em pacientes parkinsonianos em fase *Off* e *On*

Tabela 1: Caracterização dos sujeitos com Doença de Parkinson..... 71

Tabela 2: Análise de variância de medições repetidas das amplitudes do potencial pré-motor de pacientes parkinsonianos entre CONDIÇÃO, LATÊNCIA e ELETRODO..... 75

Tabela 3: Análise post hoc (teste de Newman-Keuls) do efeito principal TEMPO..... 76

Comparação entre o BP nos pacientes com DP e nos controles

Tabela 4: Análise de variância das amplitudes do BP..... 78

Tabela 5: Análise post hoc (teste de Newman-Keuls) da interação LATÊNCIA *

GRUPO..... 79

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas

AMS: Área motora suplementar

ANOVA: Análise de variância entre grupos

BP: Potencial de Bereitschaft ou Potencial Pré-Motor

CEP/CCS: Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde

COMT: Catecol-O-metil transferase

cm: centímetro

CSN/MS: Conselho Nacional de Saúde

DAAA: Dopa descarboxilase

DP: Doença de Parkinson

DBS: Estimulação cerebral profunda (deep brain stimulation)

EOG: Eletro-oculograma

EEG: Eletroencefalograma

EMG: Eletromiografia

fpMP: Pico frontal do potencial motor

GPe: Globo pálido, pars externa

GPi: Globo pálido, pars interna

HY: Hoehn & Yahr

HC/UFPE: Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco

Hz: Hertz

MAO-B: Monoaminoxidase B

MEEM: Mine Exame do Estado Mental

ms: milissegundos

NMDA: N-metil-aspartato

nRM: Núcleos magno da rafe

Off: Sem efeito da medicação anti-parkinsoniana*On*: Com efeito da medicação anti-parkinsoniana

PCRM: Potencial cortical relacionado ao movimento

PPGIT: Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica

Pré-AMS: Área pré-motora suplementar

SNpc: Substancia negra, pars compacta

SNpr: Substancia negra, pars reticulada

NST: Núcleo subtalâmico

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TMS: Estimulação magnética transcraniana (Transcranial magnetic stimulation)

TRE: Tempo de reação de escolha

TRS: Tempo de reação simples

UPDRS: Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson (Unified Parkinson's Disease Rating Scale)

UFPE: Universidade Federal de Pernambuco

VEOG: Eletro-oculograma vertical

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO.....	20
2. INTRODUÇÃO.....	21
3. OBJETIVOS	23
4. REVISÃO DA LITERATURA	24
4.1. Doença de Parkinson.....	24
4.2. Piscamento palpebral na Doença de Parkinson.....	26
4.3. Neurofisiologia do Controle Motor.....	28
4.4. Tratamento da Doença de Parkinson.....	31
4.5. <i>Bereitschaftspotential</i> ou Potencial de prontidão.....	36
5. METODOLOGIA	41
5.1. Desenho do estudo.....	40
5.2. Local do estudo.....	40
5.3. População, Amostra e Recrutamento.....	40
5.4. Critérios de elegibilidade.....	40
5.5. Instrumentos para coleta de dados.....	41
5.6. Operacionalização da coleta de dados.....	42
5.7. Análise dos resultados.....	44
5.8. Aspectos éticos e legais.....	46
6. RESULTADOS	45
6.1 CAPÍTULO 1: <i>Bereitschaftspotential</i> na Doença de Parkinson:um estudo de revisão46	
6.2 CAPÍTULO 2: <i>Bereitschaftspotential</i> precedendo o piscamento palpebral espontâneo e voluntário em sujeitos normais.....	58
6.3 CAPÍTULO 3: <i>Bereitschaftspotential</i> precedendo o piscamento palpebral na Doença de Parkinson nos períodos <i>Off</i> e <i>On</i>	70
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82
8. PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....	83
REFERÊNCIAS.....	84
ANEXO A.....	102
ANEXO B.....	103
ANEXO C.....	118

APÊNDICE A.....	121
APÊNDICE B.....	122

1. APRESENTAÇÃO

Esta Dissertação de Mestrado foi elaborada conforme a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), NBR 14724 (Informação e documentação - Trabalhos acadêmicos), apresentação em vigor desde janeiro de 2006.

A concepção deste estudo surgiu do interesse em compreender quais as alterações corticais responsáveis pelo comprometimento do movimento automático e voluntário da Doença de Parkinson, por ser este déficit uma das principais causas de limitação decorrente desta doença.

Em harmonia com o interesse em pesquisa na Doença de Parkinson, contamos com o apoio do Pró-Parkinson, um grupo engajado em pesquisa clínica e com bom potencial de recrutamento e participação de portadores desta enfermidade, e com o dinamismo e olhar além do seu tempo da linha de pesquisa Território, Desenvolvimento e Inovação tecnológica em saúde do Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica.

A distribuição dos tópicos dá-se da seguinte forma: o item dois faz uma breve introdução acerca do tema em questão. No item três estão descritos os objetivos gerais e específicos da dissertação. O item quatro refere-se à revisão da literatura fazendo uma análise concisa e atualizada da Doença de Parkinson, mais especificamente do piscamento palpebral seguindo pelos circuitos cerebrais relacionados ao controle motor e sua influência na bradicinesia, com a descrição do tratamento e a inserção destes temas na análise neurofisiológica do potencial de prontidão ou *Bereitschaftspotential*. Este item finaliza por lançar a pergunta condutora, a hipótese e justificar a relevância do estudo.

O item cinco descreve a metodologia, o item seis apresenta os resultados e sua análise sob a forma de três artigos. O item sete segue com as considerações finais e o oito com as perspectivas futuras. As referências bibliográficas são seguidas dos anexos e apêndices.

2. INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson (DP) é uma enfermidade neurodegenerativa decorrente da progressiva degeneração dos neurônios dopaminérgicos da substância negra pars compacta (SNpc), associada ao acúmulo ou escassez de moléculas, secundária ao comprometimento metabólico e estresse oxidativo desta região (GROGER et al., 2014). Acomete, em geral, a faixa etária mais idosa, tendo crescente aumento de sua incidência e prevalência devido à maior expectativa de vida da população mundial (BENJAMIN, JOSEPH, 2001; EL-TALLAWY et al., 2013). Estima-se que no Brasil 3,3% da população acima de 64 anos seja portadora desta patologia (BARBOSA et al., 2006).

A sintomatologia motora clássica caracterizada por bradicinesia, tremor de repouso, rigidez e instabilidade postural é bem descrita, e as terapias medicamentosas e não medicamentosas buscam incessantemente amenizá-las desde as fases iniciais até os estágios mais avançados e incapacitantes (SOLLA et al., 2010; BOHNEN et al., 2011; SINGER, 2012). Os sintomas não motores, por sua vez, menos enfatizados na prática clínica, representam importantes fatores de morbidade e sua terapêutica merece considerável atenção na proporção de uma melhor qualidade de vida (BOSTANTJOPOULOU et al., 2013; MARTÍNEZ-MARTÍN, HERNÁNDEZ, RICART, 2013). Esta enfermidade acarreta relevante impacto socioeconômico e na qualidade de vida de seus portadores e cuidadores conseqüente a progressiva dependência física em atividades de vida diária, além da posterior deterioração cognitiva, necessitando da atenção continuada de uma equipe multidisciplinar (GARCÍA-RAMOS et al., 2013; REDDY, et al., 2014).

Dentre os sinais cardinais da DP, destaca-se a bradicinesia presente já em fases iniciais da doença e que se define pela lentificação no desempenho do movimento. Embora sejam todos englobados nesta terminologia, a dificuldade de iniciar o movimento é nomeada *freezing* e a pobreza da motricidade espontânea e associada são tecnicamente denominados acinesia. Da mesma maneira que a redução da amplitude do movimento é mais bem descrita como hipocinesia (BERARDELLI et al., 2001; ALMEIDA, BROWN, 2013). Apesar da clássica teoria do comprometimento dopaminérgico no desenvolvimento deste sinal manter-se aceitável, sabe-se que vias não dopaminérgica ou dopa resistente interferem ativamente no planejamento motor (ALMEIDA, BROWN, 2013).

Neste contexto, discutiremos a cerca da hipomimia, também denominada fácies em máscara, mais especificamente sobre a atenuação do piscamento ocular. O piscamento palpebral é um ato motor de expressão variada, sendo realizado de forma espontânea (movimento automático), voluntária e reflexa. Alterações em sua frequência e amplitude têm sido descritas na DP, com piora progressiva ao longo da evolução da doença (KOROSEC et al., 2006; AGOSTINO et al., 2008). As vias neurais afetadas no processamento e ou a execução deste movimento ainda são alvo de suposições e interrogações (CRUZ et al., 2011), sendo seu estudo fundamental ao entendimento, planejamento e terapêutica desta enfermidade incapacitante.

Com a finalidade de compreender o comportamento do movimento voluntário e automático na DP, foi avaliado o piscamento palpebral voluntário e espontâneo por meio da avaliação neurofisiológica conhecida como *Bereitschaftspotential* (BP) ou potencial pré-motor. O BP demonstra a ativação de áreas relacionadas à prontidão do movimento voluntário quando eles ainda não são conscientes, assim o tornando menos de um segundo antes do ato motor (SHIBASAKI, HALLET, 2006).

A atuação da influência dopaminérgicas da dinâmica do BP foi apreciada pela utilização da levodopa, droga considerada *gold standart* no tratamento da DP em estágios precoces e tardios. Desta forma avaliaram-se pacientes na ausência e na presença do uso desta medicação, períodos *Off* e *On*, respectivamente.

Até então não há estudos que descrevam o BP do piscamento palpebral em doentes com Parkinson e há raros relatos em pessoas saudáveis, assim sendo, examinaram-se inicialmente controles normais para obtenção do parâmetro da normalidade, em seguida realizou-se o estudo dos casos.

Acreditamos que a observação e análise do BP do piscamento ocular nos pacientes com DP possam preencher algumas lacunas existentes sobre a atuação das vias dopaminérgicas durante os movimentos automáticos e atos voluntários.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar a presença do *Bereitschaftspotential* relacionado ao piscamento palpebral em sujeitos normais e com Doença de Parkinson.

3.2 Específicos:

- Estudar o *Bereitschaftspotential* relacionado ao piscamento palpebral espontâneo e voluntário em sujeitos normais.
- Analisar o *Bereitschaftspotential* relacionado ao piscamento palpebral em sujeitos com doença de Parkinson na fase *Off*.
- Investigar o *Bereitschaftspotential* precedendo o piscamento palpebral em sujeitos com doença de Parkinson na fase *On*.

4. REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Doença de Parkinson

A DP foi descrita inicialmente por James Parkinson em 1817 e desde então vem sendo estudada e melhor compreendida. A DP é a segunda desordem neurodegenerativa mais comum, ficando atrás apenas da Doença de Alzheimer (FERNANDEZ, 2012; NEEDHAM, WORTH, 2012). A prevalência e incidência da DP aumentam com a idade (MABTRILA, RINNE, 1976; EL-TALLAWY et al., 2013) e são mais frequentes no sexo masculino (HUGHES et al., 1992; BENJAMIN, JOSEPH, 2001).

Apresenta etiologia multifatorial, com influências genéticas e ambientais, porém na maioria das vezes idiopática (FERNANDEZ, 2012; NEEDHAM, WORTH, 2012). Pesquisas com camundongos transgênicos e ressonância magnética com espectroscopia revelam progressiva degeneração neuronal dopaminérgica, alterações funcionais nos neurônios remanescente com posterior agregação de alfa sinucleína e o acúmulo de metabólitos na substância negra pars compacta (SNpc) (JANEZIC et al., 2013; GROGER et al., 2014). Teorias neuroinflamatórias envolvidas na degeneração das vias nigroestriatais mostram resultados conflitantes, sem demonstrar ao certo sua real finalidade, se é fator de risco ou um mecanismo de proteção, já que o processo inflamatório é um achado frequente na doença (THANH, 2012). Explicações neurotoxicológicas por sua vez têm sido implicadas na etiologia da DP decorrente do desequilíbrio entre mecanismos autofágicos hiperativos ou hipoativos promovendo disfunção mitocondrial e estresse oxidativo (DAGDA, BANERJEE, JANDA, 2013; GROGER et al., 2014).

Alguns fatores de proteção têm sido relatados, tais como tabagismo ativo ou passivo (NIELSEN, 2012) e consumo de café (BENJAMIN, JOSEPH, 2001; POPAT, 2011). Em acordo com estes dados, DECAMP e SCHNEIDER (2006) relatam a melhora de sintomas cognitivos relacionados à execução e atenção do ato motor em estudos com macacos, tratados cronicamente com MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine), após terapia com nicotina.

O exercício físico vigoroso apresenta impacto na qualidade de vida e na sobrevivência provavelmente devido ao seu efeito benéfico cardiovascular, cerebrovascular, antidepressivo e

metabólico (diabetes melitus, obesidade, osteoporose e dislipidemia), não sabendo se o mesmo retarda a progressão da doença (AHLSSKOG, 2011). Estudos acerca da influência da obesidade e diabetes na DP são controversos (PALLACIOS, 2011; MORALES-BRICENO, 2012). A exposição à pesticida, herbicida ou inseticida tem sido referida como fator de risco (BENJAMIN, JOSEPH, 2001; van der MARK, 2012; DAGDA, BANERJEE, JANDA, 2013). Há redução na expectativa de vida quando comparada a outras doenças comuns em idosos, especialmente se associada à demência (POSADA, 2011; WILLIS, 2012; GARCÍA-RAMOS et al., 2013).

Os sinais cardinais motores da DP são bradicinesia, rigidez, tremor de repouso e instabilidade postural de início assimétrico. Estes sinais formam o que se chama de “parkinsonismo” que na DP é dito “típico” e na presença de bradicinesia mais um dos sinais supracitados, associado à boa resposta a levodopa confirmam o diagnóstico clínico (HUGHES et al., 1992; MANSSANO, 2011).

A bradicinesia, alvo desta investigação, origina-se dos danos progressivos às tramas neuronais relacionadas ao planejamento do controle motor (BERARDELLI et al., 2001). Vias dopaminérgicas e não dopaminérgicas têm sido implicadas nesta fisiopatologia, associadas ao desequilíbrio entre inibição e excitação, déficits e compensações que serão descritos com mais detalhes no tópico 4.3 (ALMEIDA, BROWN, 2013; YU et al., 2013; GROGER et al., 2014).

Clinicamente avalia-se a bradicinesia, nos estados *On* e *Off*, em uso de droga dopaminérgica e na ausência de droga dopaminérgica, respectivamente, por meio de escalas de mensuração do grau de acometimento deste sinal clínico. A Escala unificada de avaliação da Doença de Parkinson (UPDRS) é uma das mais efetivas e utilizadas no mundo (UPDRS, 2003; PAL, GOETZ, 2013). É avaliada pelo exame dos *finger taps* (movimento rápido e com a maior amplitude possível batendo o polegar e indicador de cada mão), movimentos rápidos e sucessivos na maior amplitude possível de forma alternada e não alternada em mãos, agilidade nas pernas, agilidade em se levantar da cadeira, avaliação combinada entre hesitação do início do movimento, diminuição do balançar dos braços, pobreza e pequena amplitude de movimentos em geral. Todos discriminados numa escala de zero (normal) a cinco (severa incapacidade) para cada quesito.

Na UPDRS não há um quesito específico para amplitude e ou frequência do piscamento ocular, fazendo uma avaliação global por meio da hipomímia facial. Estes distúrbios na mímica facial apresentam-se alterados desde as fases iniciais da DP, progredindo com o avançar desta enfermidade (KOROSEC et al., 2006). Este sinal será detalhado no tópico 4.2.

Sintomas não motores como hiposmia, sialorréia, hipofonia, disartria, disfagia, alterações sensoriais (parestesias e dor), distúrbios autonômicos (constipação, disfunção urinária e sexual), distúrbios neuropsiquiátricos (depressão, apatia, ansiedade, demência e psicose), além de fadiga, distúrbios do sono (distúrbio comportamental do sono REM, sonolência excessiva diurna), dermatite seborréica e anormalidades oculares vem sendo cada vez mais relatados, evidenciando que a sintomatologia motora é apenas a “ponta do iceberg” (FERNANDEZ, 2012; NEEDHAM, WORTH, 2012).

Não há exames complementares que confirmem a doença. Estes são usados na exclusão de diagnósticos diferenciais quando associados a características fenotípicas próprias e/ou sinais de alerta (rápido agravamento clínico, ausência de tremor ao longo de todo o curso da doença, demência ou psicose no início da doença, alterações piramidais, alterações cerebelares, distúrbios dos movimentos oculares, sintomas bulbares ou pseudobulbares, mão alienígena, resposta insuficiente a levodopa, quedas ou disautonomias no início da doença). Dentre os diagnósticos diferenciais destacam-se o parkinsonismo vascular, parkinsonismo iatrogênico, tremor essencial, tremor postural, atrofia de múltiplos sistemas, demência por corpúsculo de Lewy, paralisia supranuclear progressiva e degeneração ganglionar corticobasal (BOHLHALTER, KÄGI, 2011; MANSSANO, 2011).

4.2 Piscamento palpebral na Doença de Parkinson.

A redução da expressividade muscular facial automática e voluntária é um dos clássicos sinais da bradicinesia da DP e denomina-se hipomímia ou fácies em máscara. Este achado piora progressivamente com a evolução da doença e freqüentemente gera implicações sociais decorrentes da aparência apática, depressiva, introspectiva ou de comprometimento cognitivo. Parece ter mais implicações sociais nas mulheres e influencia e é influenciada por questões culturais (TICKLE-DEGNEN et al., 2011). Dentre os achados da hipomímia, destaca-se o comprometimento na amplitude e cinemática do piscamento palpebral.

Apesar de aparentemente simples, o piscamento palpebral envolve um complexo sistema neural de interconexões centrais e periféricas com interação entre os sistemas motores faciais, oculomotores e musculatura retrátil bulbar. Sua funcionalidade vai além da proteção e umedecimento corneano, mas se mostra essencial aos movimentos sacádicos, fixações e as

várias etapas do processamento cognitivo visual, como os relacionados à expressão emocional (DELGADO-GARCÍA et al., 2002, 2003).

Embora a seqüência muscular realizada durante o piscamento espontâneo já tenha sido bastante documentada, as vias neurais que controlam este ato motor ainda não são totalmente conhecidas (CRUZ et al., 2011). Clinicamente se apresenta sob a forma de movimentos espontâneos (realizados de forma inconsciente e automática), voluntários (realizados por vontade do indivíduo) e como respostas reflexas a diferentes modalidades sensoriais a depender de sua intensidade, duração e localização (DELGADO-GARCÍA et al., 2002, 2003).

A importância das vias dopaminérgicas na cinemática do piscamento palpebral espontâneo (DEUSCH, GODDEMEIER, 1998; TAYLOR et al., 1999; COLZATO et al., 2008b), voluntário (AGOSTINO et al., 2008) e na habituação do reflexo de piscamento (PENDERS, DELWAIDE, 1971) têm sido demonstrada ao longo dos anos. Os achados de KOROSEC et al. (2006) revelam redução da amplitude do piscamento voluntário e reflexo nos pacientes com DP em relação aos controles e piora da hipocinesia do piscamento espontâneo diretamente proporcional a gravidade da DP (UPDRS x avaliação da amplitude), sem alterações cinemáticas significativas.

AGOSTINO et al. (2008) e BOLOGNA et al. (2009) relataram alteração cinemática dos piscamentos voluntário, espontâneo e reflexo em parkinsonianos. AGOSTINO descreveu o aumento do tempo entre a abertura e o fechamento ocular no piscamento voluntário, redução na frequência, amplitude e no pico de velocidade no piscamento espontâneo e aumento da amplitude do fechamento ocular no piscamento reflexo na DP em estado *Off* comparado aos controles.

Em 2003, KATO e MIYAUCHI demonstraram ativação do giro pré-central medial durante o piscamento palpebral voluntário por meio da Ressonância Magnética funcional do cérebro. A influência do núcleo subtalâmico (NST) na cinemática do piscamento palpebral espontâneo e voluntário, mas não no reflexo foi demonstrado em estudos com estimulação cerebral profunda (DBS) (BOLOGNA, et al., 2012). A interação entre o córtex pré-motor e motor, núcleo rubro ou área pararubral, formação reticular e as distintas vias de intercomunicações cerebelares corticais e subcorticais são fundamentais a dinâmica deste ato motor (DELGADO-GARCÍA et al., 2003; BRACHA et al., 2009).

Apesar das características cinemáticas e morfológicas do piscamento na DP já estarem bem descritas, a complexidade de sua fisiologia e a dificuldade de analisá-la em humanos deixa

um vazio na compreensão de que vias e conexões estão realmente afetadas, quais os possíveis mecanismos compensatórios e, por conseguinte, quais fatores poderiam ter atuação terapêutica.

4.3 Neurofisiologia do Controle Motor

A neurofisiologia do controle motor ainda não está totalmente esclarecida. Sabe-se que há uma série de circuitos inibitórios e excitatórios trabalhando em paralelo de forma orquestrada que culminam no estabelecimento do movimento preciso (SCHROLL, HAMKER, 2013). Os estímulos gerados pela contração muscular, órgãos sensoriais e força da gravidade associados aos mecanismos de integração sensoriomotora ao longo do movimento são responsáveis pela programação e execução do ato motor (VALLS-SOLÉ, 2006).

Os estudos neurofisiológicos têm o potencial de acessar estruturas corticais, sendo as subcorticais avaliadas de forma teórica e indireta, como por exemplo, os núcleos da base e tálamo, envolvidos na iniciação e programação do movimento, o cerebelo, relacionado à preparação motora, os núcleos e tratos do tronco cerebral, além dos cordões espinhais envolvidos na execução do movimento (VALLS-SOLÉ, 2006).

As conexões entre os núcleos da base se entremeiam entre vias inibitórias e excitatórias. Acredita-se que o striatum seja o receptor de impulsos provenientes de outros núcleos da base, córtex cerebral, tálamo e tronco cerebral. Há um alto contingente de projeções dopaminérgicas provenientes da SNpc para os receptores dopaminérgicos striatais D1 e D2 de onde saem estímulos inibitórios GABAérgicos (LINDAHL et al., 2013). O striatum dorsal (caudado-putamen) está primariamente relacionado ao funcionamento motor, enquanto que o striatum ventral (núcleo acumbens) está relacionado à motivação e à presença de comportamentos induzidos por drogas, esta divisão em subpopulação neuronal está implicada em diferentes vias e mecanismos de atuação do controle motor (ENA et al., 2011).

O receptor D1 está relacionado à via direta, responsável pela inibição da pars interna do globo pálido (GPi). O receptor D2 está relacionado à via indireta, responsável pela inibição da pars externa do globo pálido (GPe) que, por sua vez, é responsável por projeções inibitórias ao NST. O globo pálido (GP) apresenta complexa organização somatotópica (STERIO et al., 1994). O NST excita o GPi e este juntamente com a pars reticulada da substância negra (SNpr) formam os principais núcleos de saída dos gânglios da base para tálamo motor cujo estímulo é

inibitório (Figura 1). Apesar de teoricamente ser uma via de evasão, a SNpr influencia diretamente a SNpc, uma das principais responsáveis pela chegada dos estímulos motores ao striatum (LINDAHL et al., 2013). Outras vias bem descritas são a via indireta curta (córtex→striatum→GPe→GPi) e a hiper direta (córtex→NST→GPi). Esta trama de conexões é capaz de diferenciar a qualidade dos estímulos recebidos, inibí-los quando indesejados, balancear inibição e excitação, equilibrar ativação global e específica, controlar tempo e velocidade dos impulsos, modulando a programação motora por meio da plasticidade sináptica dopaminérgica (SCHROLL, HAMKER, 2013).

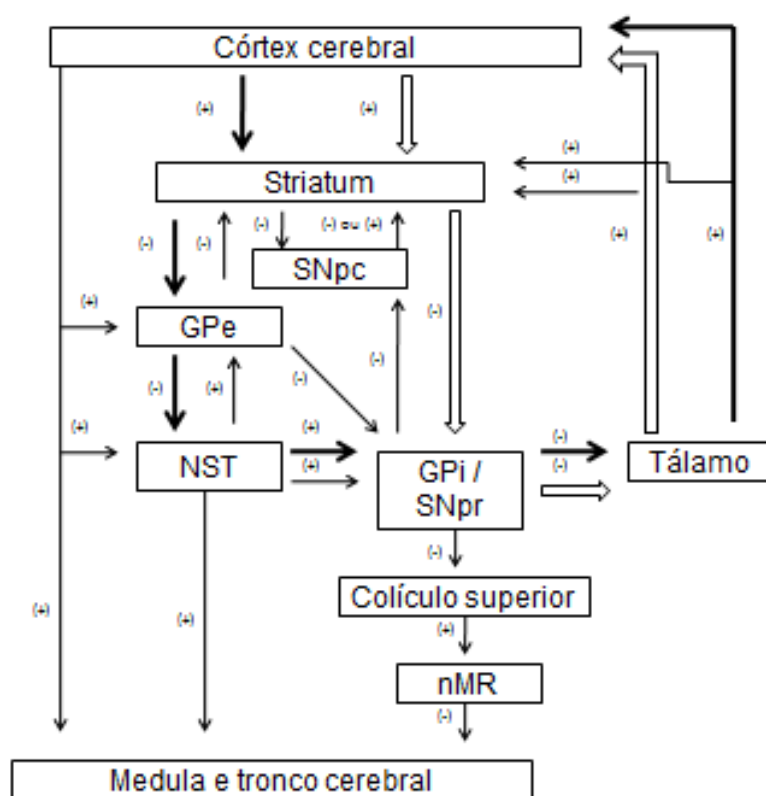


Figura 1: Conexões neurais dos gânglios da base e suas vias modulatórias. (+) sinapses excitatórias; (-) sinapses inibitórias; GPe, globo pálido externo; GPi, globo pálido interno; SNpc, substância negra pars compacta; SNpr, substância negra pars reticulada; nMR, núcleos magno da rafe; \Rightarrow via direta; \curvearrowright via indireta; \dashrightarrow vias modulatórias.

O tálamo funciona como ativador da área motora suplementar (AMS) que envia estímulos ao córtex motor primário de onde saem o trato corticonuclear, corticopontocerebelar, corticoespinhal (trato piramidal), dentre outros, para ajuste e realização de movimentos voluntários. Dessa forma, a ativação da via direta reduz a inibição do GPi sobre o tálamo

motor, facilitando a iniciação do movimento, enquanto que a via indireta aumenta a inibição do GPi sobre o tálamo motor, auxiliando no controle de movimentos indesejados e desnecessários (VALLS-SOLÉ, 2006; LINDAHL et al., 2013).

Na DP a ativação da via ganglionar dopaminérgica indireta predomina sobre a direta, aumentando a inibição do GPi sobre o tálamo, resultando em redução da atividade motora. Estes circuitos se relacionam a amplitude e velocidade do movimento, porém os movimentos manuais coordenados parecem ser dopa resistentes ou são determinados por vias não dopaminérgicas, evidenciando a complexa interação de estruturas e vias na geração do ato motor (ALMEIDA, BROWN, 2013).

Outros mecanismos descritos na fisiologia da DP são a hiperconectividade funcional entre putamen-AMS e amígdala-AMS (YU et al., 2013), hiperexcitabilidade do NST (MÉNDEZ-HERRERA, 2011) e focos de descarga aleatória em GPe (KUOPPAMAKI et al., 2005). Como as vias ganglionares basais participam mais ativamente das funções motoras auto determinadas por meio das áreas corticais mediais (AMS), vias corticais motoras laterais atuam de forma compensatória utilizando estímulos externos como forma de fazer um *by-pass* na via afetada (CUNNINGTON et al., 1995; PRAAMSTRA et al., 1998; BERARDELLI et al., 2001; HASLINGER et al., 2001). O uso de técnicas de aprendizado, atenção e planejamento na melhora da motricidade na DP, justificam os referidos mecanismos compensatórios (CUI et al., 1999; FUMURO et al., 2013).

Projeções dos núcleos da base aos interneurônios do tronco encefálico regulam o movimento dos olhos, locomoção, regulação do sono, atenção, despertar, reações de susto e muitas outras reações comportamentais relacionadas a movimentos reflexos e automáticos. A SNpr tem atuação inibitória sobre os colículos superiores. Estes atuam como ativadores dos núcleos magno da rafe (nRM) que por sua vez lançam estímulo inibitório sobre o núcleo espinhal do trigêmeo, cursando com anormalidade na mímica facial, piscamento e alguns movimentos oculares e palpebrais visualizados nos variados distúrbios do movimento (VALLS-SOLÉ, 2006).

Apesar de classicamente o córtex motor não ser acometido na DP (DICK et al., 1984), anormalidades em interneurônios corticais motores têm sido cada vez mais demonstradas, exemplificados pelo encurtamento do período silente durante estimulação magnética transcraniana (TMS) (BERARDELLI et al., 1996) e pelo comprometimento da inibição intracortical por análise da duração da resposta evocada motora pós sináptica após TMS (KLEINE et al., 2001). As teorias de hiper inibição (DEECKE et al., 1998) tem sido

substituídas por hiper excitabilidade central (PRAAMSTRA et al., 1998; PRAAMSTRA et al., 1999; SEISS, PRAAMSTRA, 2004). NI et al. (2013) sugere que o aumento da facilitação cortical seja decorrente da inibição diminuída, funcionando como um mecanismo compensatório na DP. VALLS-SOLÉ et al. (1994) acredita haver uma hiper excitabilidade cortical no repouso e uma redução da facilitação durante o esforço na DP.

A atuação do cerebelo é essencial à dinâmica motora. Embora não haja conexão cortical direta, atua de forma indireta por meio dos núcleos pontinos, formação reticulada, núcleo rubro, oliva inferior e núcleos do tronco cerebral e tálamo. Aferências sensitivas por meio das fibras excitatórias musgosas e trepadeiras atuam de forma direta ou indireta sobre as células de Purkinge e a interação destas vias geram mecanismos excitatórios e inibitórios que por sua vez atuam sobre núcleos cerebelares profundos, responsáveis pela estimulação eferente cerebelar. A interação sináptica do cerebelo com neurônios olivares estão relacionados ao aprendizado motor e um importante circuito de interação entre estas estruturas é o triângulo de Guillain-Molaret, sistema reverberativo que trabalha com feedback positivo entre as projeções excitatórias do cerebelo, núcleo rubro e oliva inferior (BAEHR, FROTSCHER, 2008). Alterações na amplitude inicial do BP em pacientes com transtornos cerebelares indicam que as vias denteadorubrotalâmica e denteadotalâmica participam direta ou indiretamente do planejamento motor (SHIBASAKI, SHIMA, KUROIWA, 1978).

Em suma o cerebelo atua na motricidade não apenas pelas interações indiretas com o córtex cerebral, mas pela entremeada relação com a medula espinhal, recebendo informação pelos tratos espinocerebelares e enviando rápidas respostas pelos tratos rubroespinhal, rubrorreticular e reticuloespinhal. Atua ainda na estabilidade postural, marcha, posição dos olhos e fixação do olhar decorrente de conexões sinápticas com o sistema vestibular (BAEHR, FROTSCHER, 2008).

Este formato de explicar as conexões cortico-subcorticais está longe de descrever exatamente o real, visto que há inúmeras e complexas interconexões dopaminérgicas e não dopaminérgicas entre as referidas estruturas (BOHNEN et al., 2011), o que faz do estudo das vias e conexões neurais uma excitante e incansável busca da compreensão do ato motor. A interação entre modelos computacionais em pesquisa, neurofisiologia clínica e as técnicas de neuroimagem são essenciais para o entendimento da integração sensoriomotora e da preparação e execução do movimento.

4.4 Tratamento da Doença de Parkinson

O manejo da DP caracteriza-se por terapias farmacológicas e não farmacológicas (educação, fisioterapia, fonoaudiologia, terapia ocupacional, psicologia, nutrição, exercício físico, ludoterapia). Estas atualmente bastante enfatizadas quanto à melhor adesão à terapia farmacológica, à melhora nas atividades de vida diária e conseqüentemente melhora da qualidade de vida. (ISAACSON, HAUSER, 2009; FERNANDEZ, 2012).

Quanto ao tratamento farmacológico, a imensa maioria dos estudos aponta a levodopa associada a um inibidor da dopa descarboxilase (DAAA), carbidopa ou benserazida como padrão ouro, porém em longo prazo (cerca de 5-6 anos) pode haver o surgimento de discinesias e flutuações motoras, sendo usualmente recomendada em paciente acima de 65 anos ou em estágios moderados a graves da doença, poupando, portanto, seu uso em fases iniciais ou sem prejuízo funcional relevante (TOLOSA, KATZENSCHLAGER, 2006; PORRAS et al., 2014).

A levodopa ou L-Dopa é um aminoácido aromático (Figura 2), encontrado naturalmente em plantas leguminosas sob a forma de dihydroxyphenylalanina. A L-Dopa sintética foi introduzida na medicina ocidental como antiparkinsoniano em 1960. É administrada via oral, absorvida no intestino delgado (por meio de transportador transmembrana de aminoácido, competindo com a proteína dos alimentos). No sangue periférico é metabolizada pela enzima DAAA, também presente no estômago e no lúmen intestinal, pela Catecol-O-metil transferase (COMT) e Monoaminoxidase-B (MAO-B). Atravessa a barreira hemato-encefálica por meio de receptores transmembrana, onde irá ser convertida em dopamina pela DAAA, ligando-se a receptores dopaminérgicos (D1A, D1B, D2, D3, D4) que são receptores muscarínicos transmembrana mediados pela proteína G. Possui início do efeito entre 30 e 50 minutos e meia vida plasmática entre uma e uma hora e meia. Devido à rápida metabolização plasmática e a intolerância quanto ao aumento da dose secundária aos efeitos colaterais indesejáveis (náuseas, vômitos, hipotensão ortostática, sonolência), este medicamento é sempre associado aos inibidores da DAAA, carbidopa ou benzerazida, aumentando a percentagem de levodopa que atinge o SNC, com redução de cerca de 60-80% da necessidade desta substância (KOLLER, 2000; TOLOSA, KATZENSCHLAGER, 2006; PORRAS et al., 2014).

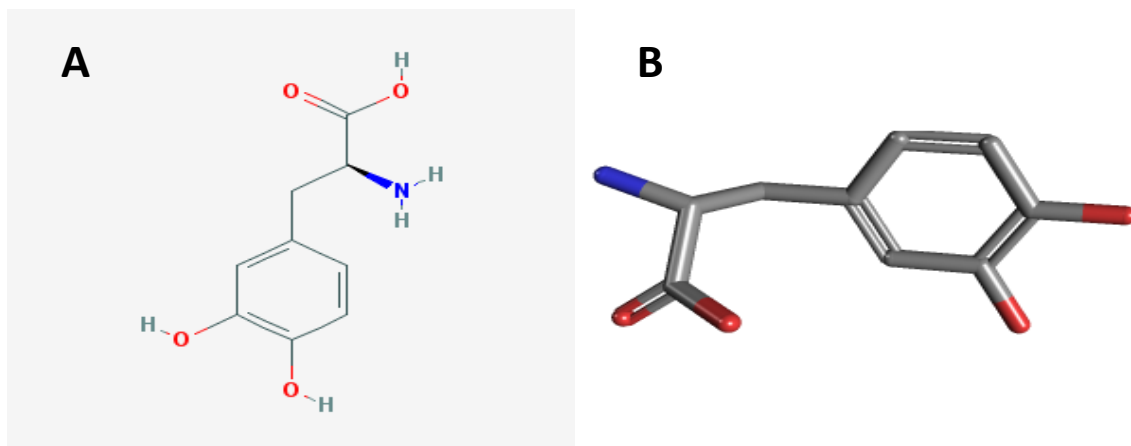


Figura 2: Representação esquemática da estrutura molecular da levodopa em 2D (figura 2A) e 3D (figura 2B), cuja fórmula molecular é $C_9H_{11}NO_4$ e o nome IUPAC (2S)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl)propanoic acid. O número de identificação do composto é 6047. Imagens retiradas do PubChem Compound, disponível em <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acessado em: 16 de março de 2014.

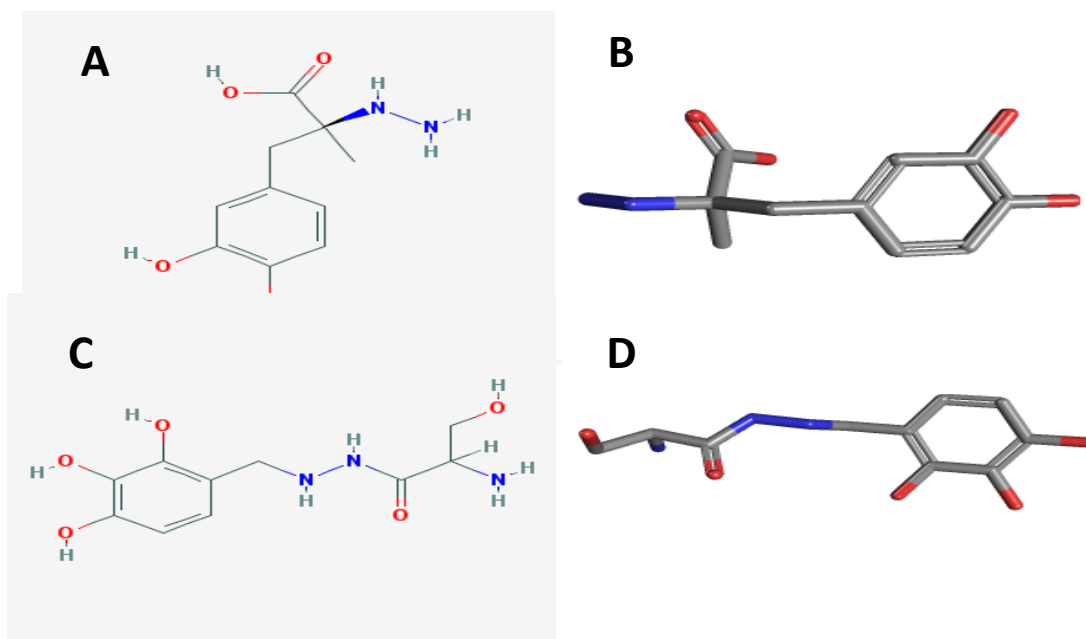


Figura 3: Representação esquemática da estrutura molecular dos inibidores da dopa descarboxilase. As figuras 3A e 3B representam a carbidopa em 2D e 3D, respectivamente. Sua fórmula molecular é $C_{10}H_{14}N_2O_4$ e o nome IUPAC (2S)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-hydrazinyl-2-methylpropanoic acid. O número de identificação do composto é 34359. As figuras 3C e 3D representam a benserazida em 2D e 3D, respectivamente. Sua fórmula molecular é $C_{10}H_{15}N_3O_5$ e o nome IUPAC $C_{10}H_{15}N_3O_5$. O número de identificação do composto é 2327. Imagens retiradas do PubChem Compound, disponível em <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acessado em: 16 de março de 2014.

Conforme descrito no item 4.3 não é a simples ligação entre a dopamina, proveniente do metabolismo da levodopa, e os receptores dopaminérgicos, ativadores das clássicas vias motoras, que desencadeiam o ato motor de forma sequencial e uniforme. Os neurônios

mesencefálicos dopaminérgicos estão organizados em grupos capazes de atuar em distintas vias a fim de controlar diferentes aspectos do comportamento motor com disparo tônico ou fásico a depender das necessidades e características do movimento em curso. Fatores cognitivos relacionados à recompensa, punição e motivação são capazes de alterar a taxa de disparo deste neurotransmissor, modulando o movimento (HONG, 2013).

Outras drogas utilizadas em fases iniciais e ou associadas à levodopa em estágios tardios são os inibidores da MAO-B (selegilina e razagilina), antagonistas do N-metil-aspartato (NMDA) (amantadina), os agonistas dopaminérgicos orais não ergotamínicos (ropinirole, pramipexol, rotigotina and piribedile) e ergotamínicos (alpha-dihydroergocriptina, bromocriptina, lisurida, cabergolina, pergolida), agonista dopaminérgico parenteral (apomorfina), os anticolinérgicos (benztropina, biperideno, diphenhydramina, ethopropazina, orphenadrina, procyclidina and trihexyphenidyl) e inibidores da COMT (entacapone, tolcapone) (BROCKS, 1999; TOLOSA, KATZENSCHLAGER, 2006; ISAACSON, HAUSER, 2009; SCHAPIRA et al., 2013).

Os inibidores da MAO-B apresentam efeitos benéficos motores, cognitivos, em atividades de vida diária e na qualidade de vida de pacientes jovens com sintomas leves em monoterapia, reduzindo a necessidade de introduzir precocemente agentes dopaminérgicos, assim como adjuvante a terapêutica com levodopa em fases moderadas a avançadas, com poucos e, em geral, bem tolerados efeitos adversos (PAGONABARRAGA, RODRÍGUEZ-OROZ, 2013). Apesar do possível efeito neuroprotetor destas drogas e do pramipexol em cultura celular e modelos animais, o potencial modificador da doença não está bem estabelecido, sendo os estudos clínicos conflitantes (ISAACSON, HAUSER, 2009; SINGER et al., 2012; SCHAPIRA et al., 2013; TEO, HO, 2013; YODIM, 2013).

A modulação de receptores glutamatérgicos ionotrópicos resulta em atividade antiparkinsoniana e antidiscinética, porém os efeitos adversos psiquiátricos limitam seu uso clínico a amantadina, antagonista fraco NMDA. Esta droga tem sido associada à melhora do *freezing* da marcha, embora os efeitos pareçam ser transitórios (MALKANI et al., 2012). A tentativa de controlar a hiperatividade glutamatérgica com a finalidade de aperfeiçoamento da marcha em DP não revelou eficácia com o uso da memantina, outro antagonista NMDA (MOREAU et al., 2013). Devido à resistência ao tratamento dopaminérgico no controle postural e deambulação, a investigação de alvos não dopaminérgicos tem sido valorizada (BOHNEN et al., 2011). Estudos pré-clínicos envolvendo receptores glutamatérgicos

metabotrópicos apresentam resultados antiparkinsonianos promissores (GASPARINI, PAOLO, GOMEZ-MANCILLA, 2013).

Os agonistas dopaminérgicos não ergotamínicos apresentam menos efeitos colaterais que os ergotamínicos. Ambos podem ser usados em monoterapia em pacientes jovens ou associados à levodopa como “poupadores” desta medicação retardando o início das flutuações motoras e discinesias. Estas medicações, todavia, não substituem a levodopa por serem menos efetivas e mais onerosas (KONTA, FRANK, 2008; SCHAPIRA et al., 2013).

As drogas com propriedades anticolinérgicas foram pioneiras na terapêutica da DP, porém têm sido preteridas no tratamento inicial e adjuvante em relação às drogas supracitadas, devido ao discreto efeito clínico observado. Apesar de raramente utilizada em pacientes jovens sem distúrbio cognitivo para controle do tremor de repouso severo, estudos demonstram inconclusiva eficácia (BROCKS, 1999; TOLOSA, KATZENSCHLAGER, 2006; MÜLLER, 2012). Disfunções nas vias colinérgicas podem ser visualizadas mesmo em pacientes sem distúrbio cognitivo, sendo as terapias anticolinesterásicas profiláticas possíveis alvos de investigação (MANGANELLI et al., 2009).

Os inibidores da COMT são usados em fases tardias da doença como tratamento adjuvante a levodopa associada aos inibidores da DAAA. Fatores clínicos como bradicinesia, rigidez diurna, dificuldades na marcha e piora clínica global assim como os fatores psicossociais, representados principalmente por dificuldade em realizar atividades de vida diária influenciam a decisão terapêutica de início destas medicações (MARTÍNEZ-MARTÍN, HERNÁNDEZ, RICART, 2013). Os inibidores da COMT têm a finalidade de aumentar a disponibilidade da levodopa, reduzindo os períodos *Off* em pacientes com flutuação motora e melhorando o desempenho motor em pacientes com e sem flutuação. Apesar da superioridade clínica do tolcapone em relação ao entacapone, aquele apresenta potencial de desencadear hepatotoxicidade que o faz ser indicado em casos de refratariedade ou intolerância ao entacapone (TOLOSA, KATZENSCHLAGER, 2006; TRUONG, 2009; SOLLA et al., 2010).

Até então não há nenhum tratamento curativo ou profilático eficaz. Em casos selecionados, tratamentos mais invasivos como infusão intestinal de levodopa, apomorfina subcutânea, DBS e palidotomia poderão ser indicados (KARLSBORG et al., 2010). Pesquisas utilizando DBS precoce, células troncos e terapia gênica estão sendo aperfeiçoadas, podendo ser futuramente promissores modificadores da DP (POLITIS, LINDVALL, 2012). Algumas estratégias estão sob investigação como aprimoramento da função mitocondrial, mecanismos antiinflamatórios, bloqueio de canal de cálcio e elevação de ácido úrico (SINGER et al., 2012).

O tratamento dos sintomas não motores deve ser integrado às terapêuticas tradicionais para controle motor a fim de amenizar os déficits e melhorar a qualidade de vida (MANSSANO, 2011; NEEDHAM, WORTH, 2012). Deve-se ter cautela quanto aos efeitos adversos destas terapias a fim de que os danos não sejam mais relevantes que os ganhos ao analisar cada paciente em particular, assim como orientação e aconselhamento aos doentes e familiares (MANDAL et al., 2010; MÜLLER, 2012; BRUSA et al., 2013; HARATI, MÜLLER, 2013; SKODDA et al., 2014). Outro fator fundamental na relação entre o (s) profissional (is) diretamente relacionado (s) às terapêuticas propostas é manter o equilíbrio entre as expectativas do paciente, a severidade da doença e o possível potencial de resposta a terapia prescrita (REDDY et al., 2014).

4.5 *Bereitschaftspotential* ou Potencial de prontidão

O *Bereitschaftspotential* ou Potencial de prontidão ou Readiness Potential descrito pela primeira vez em 1964 por Kornhuber e Deecke, corresponde ao achado eletroencefalográfico (EEG) da atividade cortical de preparo do movimento voluntário. Após realização do EEG e eletromiografia (EMG) simultaneamente durante um movimento repetido com registro dos dados numa fita magnética, promediaram-se os dados retrogradamente ao movimento, observando dois componentes, um antes e outro após o início da EMG, o BP e o *reafferente Potentiale*, respectivamente (SHIBASAKI, HALLET, 2006).

Um novo aumento do gradiente do BP antes do início do movimento foi relatado por KORNHUBER, 1964; DEECKE, 1965, 1969, 1976 e SHIBASAKI, 1980. Descrevendo-se, portanto, um BP precoce e um BP tardio. Desde então numerosos estudos acerca dos potenciais corticais relacionados ao movimento (PCRM) vem sendo realizados, muitos deles sem esclarecimento fisiológico completo (Figura 4) (DEECKE et al., 1976; LIBET, WRIGHT, GLEASON, 1982; LEE et al., 1986; BARRET, SHIBASAKI, NESHIGE, 1986a; TANII, SADOYAMA, SAMEISHIMA, 1987; NESHIGE et al., 1988; KRISTEVA-FEIGE et al., 1997; SHIBASAKI, HALLET, 2006; CAVINESS, EVIDENTE, JOSHI, 1998).

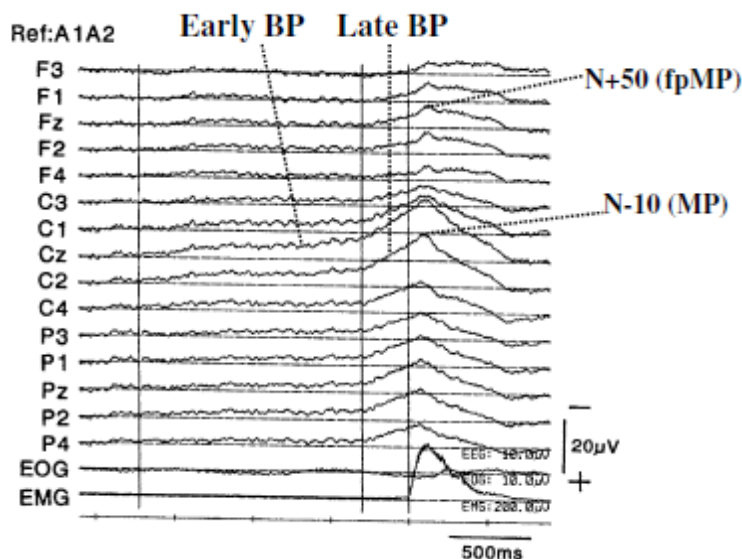


Figura 4: *Bereitschaftspotential* precoce e tardio durante extensão do punho esquerdo. No eixo das ordenadas estão representados os canais do EEG, EOG e EMG e na abscissa o tempo decorrido. Early BP: BP precoce; Late BP: BP tardio; N-10 (MP) - potencial motor; N + 50 (fpMP) - pico frontal do potencial motor; EEG- eletroencefalograma; EOG – eletro-oculograma; EMG – eletromiografia (Retirado de SHIBASAKI, HALLET, 2006).

O componente precoce do BP inicia-se cerca de um e meio a dois segundos antes do início do movimento, tem amplitude máxima na linha mediana da área centro-parietal e distribuição ampla e simétrica dos registros no couro cabeludo independente do sítio do movimento. Apresenta-se fisiologicamente como atividade lenta negativa com progressão pelas áreas pré-motora suplementar (pré-SMA), motora suplementar (SMA) e o córtex pré-motor lateral, respectivamente. Estas vias corticais são moduladas por sinapses corticais sensoriomotoras, córtex cingulado, estruturas subcorticais e cerebelo durante o preparo do movimento. O componente tardio do BP tem localização assimétrica com amplitude máxima na área cortical contralateral ao movimento e representa a execução do movimento no córtex motor com somatotopia clara, que no caso do componente precoce só se delimita no fim do potencial (SHIBASAKI, HALLET, 2006; KORNHUBER, DEECKE, 1964; KORNHUBER, DEECKE, 1965; DEECKE, KORNHUBER, 1978; DEECKE, 1987; CAVINESS, EVIDENTE, 1998; COLEBATCH, 2007).

Diferentes fatores afetam o BP precoce e o BP tardio. O primeiro é influenciado por funções cognitivas, tais como nível de intenção, aprendizado, habilidade, praxia, força, velocidade, preparação e seleção do movimento, enquanto que o segundo varia com as características do movimento, como precisão, decomposição e complexidade. A necessidade de preparo prévio na realização do movimento em condições experimentais tende a gerar um BP

mais precoce, enquanto que o potencial mais tardio é visualizado no aumento da velocidade do ato motor. “O BP precoce reflete o subconsciente da prontidão para o movimento futuro enquanto o BP tardio corresponde à vontade consciente do movimento” (SHIBASAKI, HALLET, 2006).

DEECKE et al. (1998) descreve antecipação do BP quanto maior for a complexidade do ato motor, reforçando a importância da área motora suplementar na realização do movimento voluntário, que quando afetada resulta em lentificação e alteração do ritmo motor, conforme evidenciado na bradicinesia da DP. WHEATON et al. (2005) demonstrou que quando se avalia uma ação práxica há surgimento de um PCRM em região parietal três segundos antes do início do movimento, ressaltando a importância da integração das vias parietal x pré-motora x motora. Desta forma a escolha do movimento aumenta a amplitude do PCRM em sujeitos normais, comparado a realização de um movimento repetitivo, não sendo evidenciado o mesmo em parkinsonianos (TOUGE, et al., 1995).

A própria intenção do ato, por si só, gera potenciais na área motora suplementar, mesmo na ausência de atividade motora posterior (TYSZKA et al., 1994). A influência da imaginação e execução de uma ação nos PCRM também foi evidenciada por KRANCZIOCH et al. (2010) que confirmou os achados de CARRILLO-DE-LA-PEÑA et al. (2008) quanto a “equivalência”, mas não a igualdade entre os potenciais “imaginados” e “executados”. Embora houvesse a ativação cortical pré-motora e motora durante o movimento, esta não é influenciada pela complexidade do movimento na ativação cortical motora do ato imaginado. CUNNINGTON et al. (1997), por sua vez, concluíram que o córtex motor primário tem pouca influência na imaginação do movimento, visto que apesar da presença do BP precoce no movimento imaginado, não observaram a lateralização final deste potencial.

Em 1987 DICK et al. observou, por meio do movimento do dedo indicador, redução do BP precoce em pacientes com DP com incremento deste potencial após o uso de L-Dopa, porém acredita não haver correlação entre este incremento e a melhora clínica devido a um aumento semelhante deste potencial em pessoas normais. Em 1999, DELFINO et al. relatou aumento do BP precoce, durante movimento dos dedos, pós palidotomia, enquanto GIRONELL et al. (2002) demonstrou haver um aumento do BP tardio após o mesmo procedimento durante movimento da mão, ambos em parkinsonianos em estágio tardio da doença.

Vários fatores afetam a realização das atividades motoras na DP, dentre elas a rigidez, o tremor, a bradicinesia e a instabilidade postural. A elaboração do movimento tem sido estudada por caracterização da ativação de áreas corticais específicas, conforme citado acima, e por meio

do tempo de reação. No tempo de reação simples (TRS), o mesmo ato é realizado em todas as situações oferecidas e, no tempo de reação de escolha (TRE), há respostas diferentes a comandos específicos. Os resultados demonstram lentificação no TRS na DP, provavelmente por distúrbios no comando de execução do movimento, estado de prontidão, e respostas controversas no TRE (BERARDELLI et al., 2001).

COLEBATCH (2007) deixa clara a dificuldade de interpretação do BP devido às diferenças individuais, à falta de padronização técnica relacionada à nomenclatura, temporalidade e definição dos diferentes componentes, além das influências relacionadas à atenção, emoção, aprendizado e dificuldade intrínseca ao movimento escolhido.

Perguntas Conductoras, Hipóteses e Justificativa.

Perguntas conductoras: É possível o registro do *Bereitschaftspotential* precedendo o piscamento ocular em sujeitos normais e na Doença de Parkinson? Existe diferença no *Bereitschaftspotential* que precede o piscamento ocular entre doentes de Parkinson e sujeitos saudáveis? O tratamento com levodopa afeta o *Bereitschaftspotential* na Doença de Parkinson?

Hipóteses: Há *Bereitschaftspotential* precedendo o piscamento ocular e na Doença de Parkinson apresenta amplitudes e latências alteradas em relação aos controles. A levodopa afeta, porém não normaliza o *Bereitschaftspotential*.

Ao nosso conhecimento ainda não existem estudos sistemáticos que tenham avaliado o *Bereitschaftspotential* no piscamento ocular de sujeitos normais nem na Doença de Parkinson. De acordo com o exposto, a avaliação do estado de prontidão deste ato motor nos auxilia na compreensão de sua neurofisiologia e da influência dopaminérgica sobre o planejamento cortical deste movimento. A escolha do piscamento como ato motor, deveu-se ao fato de o comprometimento deste ser um achado comum já em fases iniciais da DP, além de podermos obter não só respostas voluntárias, mas também espontâneas, simulando situações cotidianas. A melhor percepção destes mecanismos facilitará a investigação futura de novos alvos farmacológicos e a implementação de terapêuticas de reabilitação nestes pacientes portadores de uma enfermidade neurodegenerativa crônica, debilitante com importante prejuízo físico, psicológico e social.

5. METODOLOGIA

5.1. Desenho do estudo:

Este estudo é observacional, analítico de corte transversal.

5.2. Local do estudo

O estudo foi realizado no Serviço de Neurofisiologia Clínica e Experimental do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE) em parceria com o Pró-Parkinson: Serviço de Assistência Médica ao Paciente com Doença de Parkinson do HC/UFPE.

5.3. População, Amostra e Recrutamento

Foram incluídos no estudo 28 sujeitos, dentre eles 18 sujeitos saudáveis (oito homens) entre 17 e 60 anos (média 35 anos) e 10 pacientes com DP (nove homens) entre 43 e 86 anos (média 58 anos). Os pacientes com DP foram recrutados de forma aleatória dentre os pacientes cadastrados no Pró-Parkinson HC/UFPE. Esta amostra é caracterizada como de conveniência sendo obtida por demanda espontânea, tendo em vista que os pacientes que chegaram ao serviço para a sua consulta de rotina, que atenderam aos critérios de elegibilidade e que aceitaram formalmente participar do estudo através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE B), foram incluídos.

Os sujeitos da amostra foram avaliados segundo a versão original da escala de Hoehn & Yahr (HY) (MARTINEZ-MARTIN, 2013). O recrutamento dos 18 sujeitos normais controles foi feito no próprio HC/UFPE entre os acompanhantes dos pacientes, estudantes e funcionários do Hospital.

5.4 Critérios de elegibilidade

5.4.1 Critérios de inclusão

- Pacientes com diagnóstico clínico de Doença de Parkinson idiopática conforme o Banco de cérebros de Londres (HUGHES et al., 1992), nos estágios um, dois ou três HY;
- Paciente destro com o objetivo de diminuir a variabilidade produzida pela dominância cerebral.

5.4.2 Critério de exclusão

- Paciente em uso de medicações outras que não as para o tratamento da Doença de Parkinson que atuem nas vias dopaminérgicas, como neurolépticos e antidepressivos que atuem na recaptação da dopamina;
- Paciente portador de qualquer comprometimento cognitivo que prejudique a execução das tarefas durante o exame;
- Pacientes com distúrbio do movimento em musculatura facial, tais como espasmo hemifacial e blefaroespasma;
- Pacientes com comprometimento do piscar por outras causas não decorrentes do parkinsonismo, tais como acometimento muscular e nervo craniano;
- Pacientes com lesão de Sistema Nervoso Central decorrente de vasculopatia ou lesão compressiva;
- Pacientes portadores de outras doenças neurodegenerativas.

5.5 Instrumentos para coleta de dados

Para coleta dos dados foram utilizados o Mine Exame do Estado Mental (MEEM) (ANEXO A) para examinar funções cognitivas simples (HUBER et al., 2013), um questionário

contendo nome, sexo, idade, endereço, telefone para contato, dominância cortical, tempo de doença, lado de início das queixas, lado mais acometido no momento, presença de outras comorbidades, medicações em uso e estágio da escala HY (APENDICE A). Esta escala estadia a DP de zero, sem sinais clínicos, a cinco, que corresponde ao paciente restrito ao leito ou a cadeira de rodas (MARTINEZ-MARTIN, 2013). Apenas os pacientes com HY um, dois ou três foram convidados a participar do estudo, visto que nos níveis quatro e cinco os pacientes estão bastante comprometidos com a gravidade da doença, prejudicando a realização do estudo assim como trazendo transtornos ao mesmo e a seu(s) cuidador (es). Como na DP o diagnóstico é clínico, o estágio zero corresponde à fase pré-clínica, portanto sem o diagnóstico da doença.

Outra escala utilizada foi a Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson (Unified Parkinson's Disease Rating Scale – UPDRS) (ANEXO B). O UPDRS é uma das escalas mais usadas no mundo em estudos clínicos e na prática clínica diária é considerada padrão ouro na compreensão do acometimento funcional da DP (VASSAR, 2012). Esta escala avalia o estado mental, comportamento e humor; atividades de vida diária; acometimento motor e complicação do uso das medicações. Sintomas não motores da DP, como disautonomia, distúrbios do sono, hipersexualidade, fadiga, ansiedade, anedonia e prejuízo na qualidade de vida são avaliados de forma superficial ou não avaliados pelo UPDRS (UPDRS, 2003), porém neste estudo acreditamos que este fator não seja prejudicial aos objetivos propostos.

Utilizou-se o EEG da marca Neurosoft do Brasil com 21 canais de registro, segundo o sistema internacional 10-20 de colocação eletrodos. Foram utilizados 19 canais: Fp1, Fp2, F7, F3, Fz, F4, F8, T3, C3, Cz, C4, T4, T7, T3, Tz, T4, T6, O1 e O2, e um canal de eletrooculograma vertical (VEOG).

5.6 Operacionalização da coleta de dados

Os sujeitos sentavam confortavelmente numa poltrona, em sala com iluminação de média intensidade e temperatura ambiente agradável. Foram orientados a olhar adiante evitando mover a musculatura do pescoço e face. No grupo controle os piscamentos foram registrados sob duas condições: espontâneos e voluntários. Durante os registros dos piscamentos espontâneos, os sujeitos assistiam a um filme em uma tela colocada na altura dos olhos e a cerca de dois metros de distância. Para o registro dos piscamentos voluntários o paciente fixava

um ponto colocado no centro da tela, sendo orientado a piscar a cada 10 segundos. O ritmo de piscamento foi treinado com o paciente antes do início dos registros.

Os pacientes com DP que preencheram os critérios de elegibilidade foram convidados a retornar outro dia pela manhã antes da tomada da medicação antiparkinsoniana, após cerca de doze horas de sua última tomada. Foram também orientados a evitar ingestão de alimentos protéicos nesta ocasião, visto que estes alimentos retardam a absorção da levodopa. Neste grupo foram registrados os piscamentos voluntários nas condições *Off*, nas mesmas condições descritas para o grupo controle, e em seguida na condição *On*, após 40 minutos da tomada de um comprimido dispersível de Levodopa+Benserazida 100/25 mg. Os artefatos produzidos pelo piscamento e movimento ocular foram removidos utilizando-se procedimentos de compensação (LINS et al, 1993 a, 1993 b; PICTON, LINS, SCHERG, 1995). Foram registrados 10 minutos para cada tipo de piscamento ocular.

O EEG foi obtido a partir de uma touca com dezenove canais segundo o sistema internacional 10-20. Além dos eletrodos da touca foram utilizados dois eletrodos retroauriculares, que interligados, foram utilizados como referência e dois eletrodos (G1 localizado um cm acima da pálpebra superior e G2 há um cm abaixo da pálpebra inferior) para o registro do VEOG). O eletrodo terra foi colocado na clavícula direita (Figura 5). Este exame não cursa com dor, apenas leve desconforto quanto à abrasão da pele no couro cabeludo durante o ajuste da impedância dos eletrodos.

Os registros foram realizados por um polígrafo Neuron-Spectrum. NET da marca Neurosoft (Figura 5). Os filtros utilizados foram de 0.1 Hz (passa alta) e 35 Hz (passa-baixa). As impedâncias (10 Hz) foram mantidas abaixo de 3k Ω .

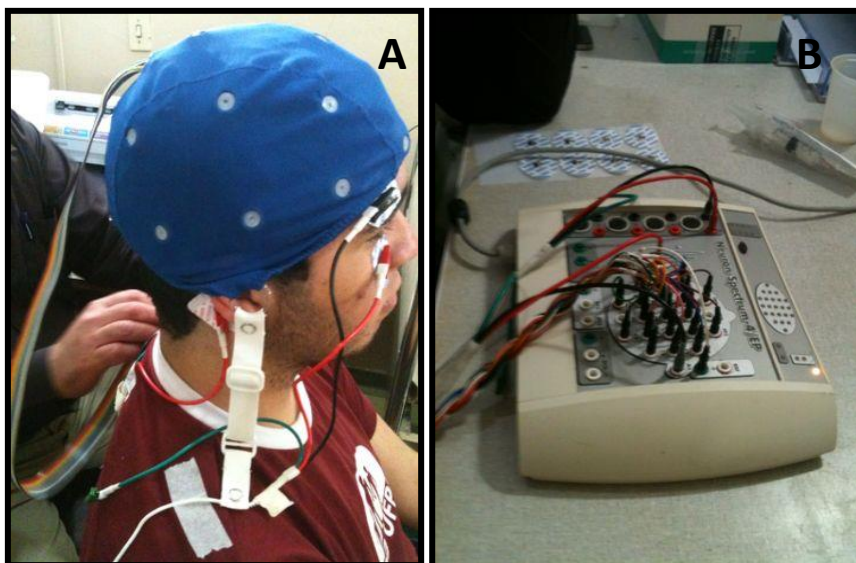


Figura 5: Colocação da touca de EEG (5A) e imagem do polígrafo Neuron-Spectrum. NET da marca Neurosoft (5B). Na figura 5A se observam eletrodos do VEOG posicionados acima e abaixo do olho direito, o eletrodo verde (solto) deverá ser colocado na clavícula direita.

5.7 Análise dos resultados

Os piscamentos foram marcados visualmente no início da deflexão positiva no eletrodo VEOG e promediados três segundos antes e dois segundos depois. No grupo controle foram promediados uma média de 35 piscamentos espontâneo e 49 piscamentos voluntários. No grupo da DP foram promediados uma média de 43 piscamentos voluntários na fase *Off* e 40 piscamentos voluntários na fase *On*. Os piscamentos que apresentavam artefatos no período de análise foram eliminados. As promediações foram salvas em arquivos textos e posteriormente analisadas num programa dedicado escrito em Matlab. Este programa lia os arquivos textos, exibia-os na tela e realizava as medições a serem utilizadas na análise estatística.

Inicialmente as ondas obtidas pela promediação geral de todos os sujeitos foram observadas para definição dos pontos de medição. Estes pontos foram estabelecidos em -1800ms (anterior ao início do potencial pré-motor da média geral), -500ms (anterior ao início do componente tardio) e 0ms (ponto de maior amplitude do potencial pré-motor, imediatamente anterior ao início do potencial de piscamento). Para compensar o ruído de fundo foram promediadas as amplitudes em um segmento de 100ms com centro na latência a ser medida.

A análise estatística das amplitudes do BP foi realizada nos eletrodos C3, Cz e C4. Para análise foi utilizado o pacote estatístico STATISTICA versão 10 (Start Soft). A análise inferencial foi realizada através de análise de variância (ANOVA). Nos controles foi utilizada uma ANOVA de medições repetidas, condição (espontâneo e voluntário), latência (-1800ms, -500ms, 0ms) e eletrodo (C3, Cz, C4). No grupo de parkinsonianos uma ANOVA de medições repetidas, condição (*Off* e *On*), latência (-1800ms, -500ms, 0s) e eletrodo (C3, Cz, C4) foi utilizada para comparar as fases *Off* e *On*. Uma ANOVA modelo misto, com dois grupos (DP e controles) e duas medições repetidas: latência (-1800ms, -500ms, 0ms) e eletrodo (C3, Cz, C4) foi utilizada para comparar os pacientes parkinsonianos em geral com os controles. Para análise Post-hoc foi utilizado o teste de Newman-Keuls. O p crítico foi estabelecido em 0.05.

5.8 Aspectos éticos e legais

Este estudo atende aos critérios éticos preconizados pela resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, parecer nº 90.208 – CEP/CCS em 06 de setembro de 2012 (ANEXO C).

6.0 Resultados

6.1 Capítulo 1

Revisão Sistemática da Literatura: *Bereitschaftspotential* na Doença de Parkinson: um estudo de revisão

Introdução:

O Potencial de prontidão ou *Bereitschaftspotential* (BP) ou *Readiness potential* foi descrito pela primeira vez em 1964 por Kornhuber e Deecke, como sendo a atividade cortical de preparo do movimento voluntário observado por eletroencefalografia (EEG). Ao longo dos anos vários outros potenciais corticais relacionados ao movimento foram descritos, sejam eles pré-movimento ou pós-movimento, assim como distintas nomenclaturas e técnicas de obtenção (DEECKE et al., 1976; LEE et al., 1986; TANII, SADOYAMA, SAMESHIMA, 1987; NESHIGE et al., 1988; KRISTEVA-FEIGE et al., 1997; CUI, DEECKE, 1999; SHIBASAKI, HALLET, 2006; COLEBATCH, 2007). Nesta revisão será convencionada a terminologia *Bereitschaftspotential* ou BP por questões históricas ligadas a sua primeira descrição e nos deteremos ao estudo deste potencial por registro em EEG e movimento autorregulado.

A avaliação retrógrada dos potenciais promediados é consistente com uma onda negativa que se inicia cerca de um a dois segundos antes do movimento. Posteriormente foi observado que este potencial se divide em dois componentes, um precoce e um tardio (LIBET, WRIGHT, GLEASON, 1982; BARRET, SHIBASAKI, NESHIGE, 1986a; CAVINESS, EVIDENTE, JOSHI, 1998; SHIBASAKI, HALLET, 2006; COLEBATCH, 2007). O componente precoce do BP tem amplitude máxima na linha mediana da área centro-parietal e distribuição ampla e simétrica dos registros no couro cabeludo independente do sítio do movimento. Apresenta-se fisiologicamente como atividade lenta negativa com progressão pelas áreas pré-motora suplementar (pré-AMS), motora suplementar (AMS) e o córtex pré-motor lateral, respectivamente. Acredita-se também que ocorra influência do córtex cingulado e de forma indireta por meio de conexão de estruturas subcorticais com as áreas citadas. O componente tardio do BP precede em cerca de 400ms o movimento, tem localização

assimétrica com amplitude máxima na área cortical contralateral ao ato motor e representa a execução do movimento no córtex motor com somatotopia clara, que no caso do componente precoce só se delimita no fim do potencial (KORNHUBER, DEECKE, 1964; KORNHUBER, DEECKE, 1965; DEECKE, KORNHUBER, 1978; DEECKE, 1987; CAVINESS, EVIDENTE, 1998; SHIBASAKI, HALLET, 2006; COLEBATCH, 2007).

O BP tem sido útil na compreensão das disfunções do planejamento e execução motora nos mais variados distúrbios do movimento, dentre eles na Doença de Parkinson (DP). Esta enfermidade é a segunda desordem neurodegenerativa mais comum (FERNANDEZ, 2012; NEEDHAM, WORTH, 2012) e apresenta aumento de incidência e prevalência devido à maior expectativa de vida da população mundial (BENJAMIN, JOSEPH, 2001; EL-TALLAWY et al., 2013), gerando importante impacto socioeconômico e na qualidade de vida de seus portadores (GARCÍA-RAMOS et al., 2013; REDDY, et al., 2014). A DP cursa com um vasto e progressivo comprometimento motor caracterizado pela bradicinesia, tremor, rigidez e instabilidade postural. Apesar da clássica teoria do comprometimento dopaminérgico na fisiopatologia desta doença, sabe-se que vias não dopaminérgica e dopa resistente têm relevante atuação no seu desenvolvimento e progressão (ALMEIDA, BROWN, 2013).

Esta revisão sistemática objetiva verificar o comportamento do BP em pacientes com Doença de Parkinson de forma crítica e objetiva a fim de auxiliar a orientação de investigações futuras. A variabilidade interindividual do BP, inclusive com ausência em algumas pessoas; as diferentes nomenclaturas utilizadas; a definição dos componentes e a forma de obtenção e análise geram dificuldades de interpretação dos estudos já realizados (COLEBATCH, 2007). Como objetivo secundário será descrita a influência da Levodopa, droga considerada *gold standart* no tratamento da DP, sobre os potenciais obtidos.

Métodos:

Esta revisão da literatura foi realizada de forma independente e cega por IAM e MGWSC e revisada por OGL e DCO.

Pergunta condutora e desfechos esperados:

A pergunta condutora que guiou o estudo foi: Como se apresenta o *Bereitschaftspotential* na Doença de Parkinson? O desfecho primário esperado é que há uma alteração na amplitude e latência do *Bereitschaftspotential* na DP. O desfecho secundário esperado é que a Levodopa interfere, mas não normaliza o *Bereitschaftspotential* na Doença de Parkinson.

Busca e seleção dos artigos:

A busca foi realizada no portal Pubmed e Bireme nos meses de Janeiro a Setembro de 2013. Os descritores utilizados na pesquisa foram (Parkinson disease OR Parkinson's OR Parkinsonism) AND (Readiness potential OR *Bereitschaftspotential*). Não houve restrição quanto ao ano de publicação e os filtros utilizados foram a língua inglesa e os estudos em humanos. Estudos de intervenção, relatos de caso, revisões de literatura e cartas ao editor foram excluídos desta revisão sistemática durante leitura dos títulos, seguidas pelos resumos e posteriormente pela leitura integral dos textos (SAMPAIO, MANCINI, 2007) (Figura 1 e Tabela 1).

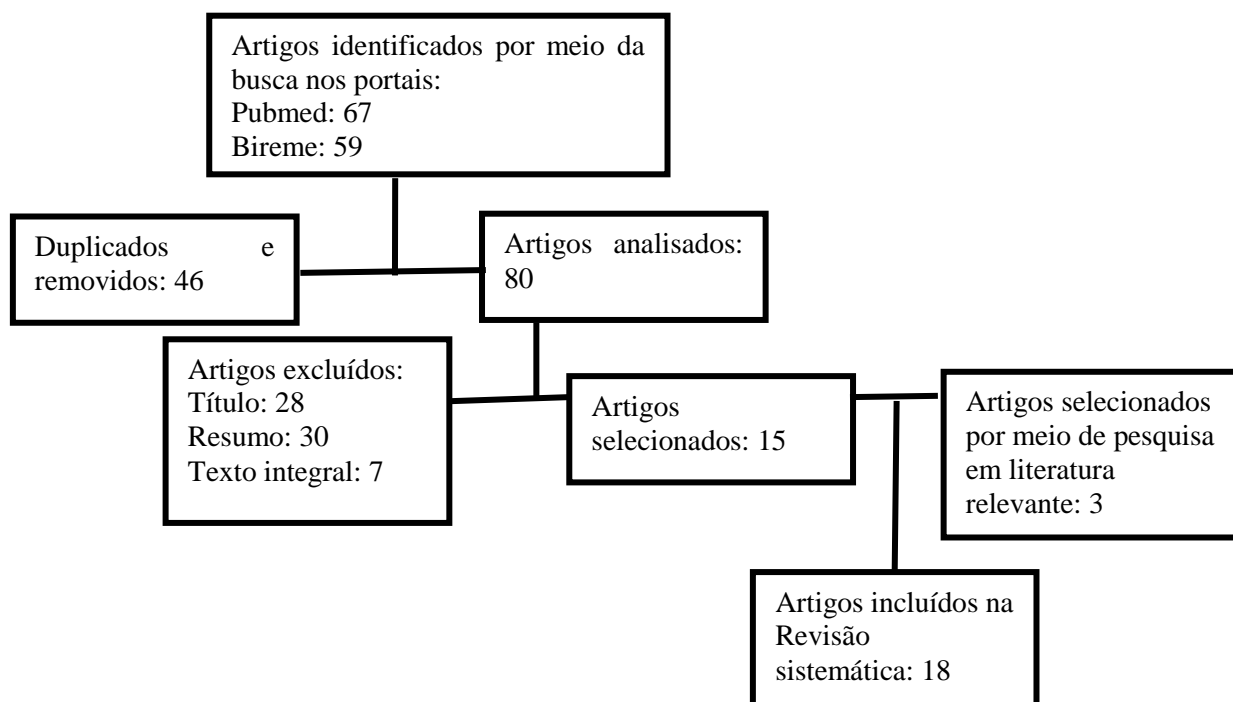


Figura 1: Fluxograma da busca e seleção de artigos para a revisão sistemática

Resultados:

Foram avaliados 18 artigos de pesquisa clínica do BP em pacientes com DP. Em sua maioria os artigos apresentaram baixa qualidade metodológica ao avaliarmos a randomização, o cegamento e a descrição das perdas e inclusões segundo os critérios descritos por Jadad et al. (1996). Os artigos foram analisados independentes da qualidade metodológica e possíveis implicações deste fato serão analisadas ao longo do texto. A maioria dos estudos avaliou ambos os sexos, com tendência a maioria masculina consistente com a predominância deste sexo na DP descrita na literatura (HUGHES et al., 1992; BENJAMIN, JOSEPH, 2001; BARBOSA et al., 2006). A média de faixa etária mais freqüente nos estudos foram a sexta e a sétima década, em acordo com achados de MABTRILA e RINNE (1976) que referem um aumento da incidência e prevalência da DP com aumento da idade, porém adultos jovens também participaram dos estudos.

Quanto às escalas, a de Hoehn & Yahr foi a mais utilizada, sendo os pacientes avaliados entre os estágios I-IV, com maior número de pacientes nos estágios mais leves. Provavelmente este fato decorre do grau de comprometimento da doença e dificuldade na colaboração e participação das tarefas. Outros escores, dentre os o UPDRS (UPDRS, 2003; VASSAR, 2012) também foram utilizados. O tempo de doença mostrou-se bastante variável (meses a 29 anos), o que é útil na avaliação e comparação da evolução da enfermidade, porém nem sempre esta comparação ficou clara. Não houve uma predominância das formas clínicas rígidas ou tremulantes nos estudos que mencionaram a sintomatologia dos pacientes (Tabela 1).

Foram selecionados estudos cujo BP foi obtido por meio de movimento voluntário, sem comando imperativo, após orientação de realizar o movimento a cada intervalo de tempo para evitar associação ou superposição com potenciais neurofisiológicos. Resultados decorrentes de outros achados neurofisiológicos não estão descritos nas tabelas. A imensa maioria dos potenciais foram obtidos previamente a movimentação de musculatura apendicular, apenas um observou movimento sacádico ocular (SHIMIZU, OKIYAMA, 1993). Um fator negativo visualizado foi o uso de apenas um hemisfério na maioria dos estudos independente do lado de maior acometimento do parkinsonismo, apesar de anormalidades neurofisiológicas terem sido descritas correlacionando-as ao acometimento ganglionar ipsilateral (SIMPSON,

KHURAIKET, 1987; CUNNINGTON et al., 2001). Não foram encontrados estudos que investigassem o BP por outros movimentos faciais, deglutição ou musculatura torácica na DP.

A distribuição do BP na DP mantém, em geral, um padrão muito semelhante aos controles dos estudos avaliados, com ampla distribuição no escalpe, mais evidente nos eletrodos centrais. Dentre as variáveis avaliadas a amplitude do BP precoce tem sido o maior alvo de investigação apresentando resultados controversos nos estudos avaliados. A redução do BP na DP foi visualizada por metade dos estudos e justificados pelo comprometimento do planejamento motor ao nível da área motora suplementar (DEECKE, KORNUBER, 1978; SHIBASAKI, SHIMA, KUROIWA, 1978; SIMPSON, KHURAIKET, 1987; DICK et al., 1987; DICK et al., 1989; TROSHINA, 1999; JAHANSHAH et al., 1995; OISHI et al., 1995; FUMURO et al., 2013). Outros relatos não acharam diferença estatisticamente significativa entre esta variável na DP e controles (BARRET, SHIBASAKI, NESHIGE, 1986B; VIDAILHET et al., 1993; SHIMIZU, OKIYAMA, 1993; DEFEBVRE et al., 1994; TOUGE et al., 1995; PRAAMSTRA et al., 1996B; FILIPOVIC et al., 2001). Poucos estudos revelaram aumento da amplitude do BP precoce na DP comparado aos controles (FATTAPPOSTA et al., 2000 e 2002) (Tabela 1).

O BP tardio e o pico de maior negatividade parecem ser pouco afetados na DP, sendo considerados dentro dos limites da normalidade na maioria dos estudos (DICK et al., 1987; DICK et al., 1989; TROSHINA, 1999; SHIMIZU, OKIYAMA, 1993; DEFEBVRE, et al., 1994; OISHI et al., 1995; JAHANSHAH et al., 1995; PRAAMSTRA et al., 1996b; FILIPOVIC et al., 2001; FUMURO et al., 2013). Poucos relatos afirmam haver uma redução do BP tardio na DP (VIDAILHET et al., 1993) ou aumento do mesmo (DICK et al., 1989) (Tabela 1).

A duração do BP na DP também revelou resultados controversos, porém a maioria dos estudos descreve latências semelhantes aos controles (SHIMIZU, OKIYAMA, 1993; DEFEBVRE et al., 1994; TOUGE et al., 1995 ; JAHANSHAH et al., 1995; FATTAPPOSTA et al., 2000; FILIPOVIC et al., 2001; FATTAPPOSTA et al., 2002). Duração encurtada (SIMPSON, KHURAIKET, 1987) ou alargada (SHIBASAKI, SHIMA, KUROIWA, 1978; TROSHINA, 1999; OISHI et al., 1995) também são relatados na literatura analisada (Tabela 1).

Apenas três estudos avaliaram a interferência da levodopa sobre o BP. Em dois deles houve incremento do BP precoce (DICK et al., 1987; OISHI et al., 1995), um destes revelou o mesmo efeito em sujeitos saudáveis não acreditando haver correlação entre a melhora clínica e esta alteração neurofisiológica. Em outro foi demonstrado resultado inverso com redução da

amplitude, porém com tendência a normalização dos parâmetros comparados aos seus controles (FATTAPPOSTA et al., 2002) (Tabela 2).

Variáveis como tempo de doença, estágio sintomatológico, técnicas empregadas na obtenção do potencial, modo de análise, músculo utilizado, complexidade do movimento, variabilidade quanto à terapia medicamentosa realizada e manutenção ou tempo de suspensão das medicações antiparkinsonianas podem ter gerado divergências na interpretação dos resultados.

Tabela 1: Tabulação de características dos sujeitos, parâmetros de registro e resultados obtidos dos artigos incluídos na revisão.

Autores	N (♂)	Idade	H&Y	TD	Medicação	Músculo	Início BP_P	Início BP_T	Amp BP_P	Amp BP_{NI}
Fumuro et al, 2013	10 (2)	63	I- IV	NI	<i>On</i>	APB	-1500 (-1500)	-500 (-500)	-3 (-6)	-7 (-11)
Fattapposta et al., 2002	12 (8)	57	I-II	<1-5	<i>Off/ On</i>	FD	NI	NI	NI	-16/-12 (-11)
Filipovic et al., 2001	16 (12)	48	I-II	2	<i>Off</i>	FPD	-1500 (-1500)	NI	NI	-6/-7.5
Fattapposta et al., 2000	12 (8)	57	I-II	<1-5	<i>Off</i>	FPD	-1500 (-1500)	-500 (-500)	NI	-15 (-11)
Troshina, 1999	19 (NI)	30-62	NI	NI	NI	FD	-1900 (-1500)	NI	NI	8 (10)
Praamstra et al., 1996b	13(10)	61	II-IV	4-14	<i>Off</i>	ERC	-1700 (-1800)	-500 (-500)	NI	10 (11)
Oishi et al., 1995	10 (NI)	63	II-III	NI	<i>Off/ On</i>	OP	-1170/-1070 (1050)	NI	NI	1.7/2.9 (3.5)
Jahanshahi et al., 1995	6 (3)	64	II-III	3-14	<i>Off</i>	EI	-1310 (-1295)	-532 (-448)	5 (5)	7 (7)
Touge et al, 1995	8 (6)	56	II-III	2-12	<i>Off</i>	PDI/OP/FPL	-1500 (-1500)	NI	5 (5)	10 (10)
Defebvre et al., 1994	10 (NO)	NO	I-III	7	<i>On?</i>	FPL	-1375 (-1750)	NO	NO	NO
Shimizu, Okiyama, 1993	13(NI)	64	II-III	NI	<i>On</i>	VEOG/HEOG	-1800 (-1800)	-500 (-500)	-4.4 (-2.9)	-7.2 (-5.7)
Vidailhet et al., 1993	7 (7)	48	I-II	1-11	<i>Off</i>	TA	-1800 (-1800)	-700	2.2	4.9
Dick et al., 1989	14 (12)	59	II-IV	5-29	<i>Off</i>	EI	-1800 (-1800)	-650 (-650)	2.5 (5)	10 (10)
Simpson, Khuraibet, 1987	55 (33)	31-75	NI	<1- 10	NI	FD	-500 (-800 -1500)	NI	NI	2 (10)
Dick et al, 1987	10(NI)	57	NI	5-19	<i>Off/On</i>	EI	-1800 (-1800)	-650 (-650)	2/5 (5)	10/12 (10)
Barret et al, 1986b	10 (5)	62	NI	NI	NI	EDC	-1600 (NI)	-850 (NI)	NI	NI
Deecke, Kornhuber, 1978	10 (NI)	NI	NI	NI	<i>On</i>	FDC	NI	NI	-0.18 (-0.82)	NI
Shibasaki et al, 1978	20 (10)	43-72	NI	NI	<i>On</i>	EDC/FD	1090 (840)	NI	6.7 (8.2)	NI

DP (Controles); N (♂): Número total (Sexo masculino); Idade: anos, HY: Hoehn&Yahr ; TD: Tempo de doença em anos; Medicação: principalmente L-DOPA; Off/ On: fora/dentro do efeito da L-DOPA; Músculo: Músculo usado como gatilho; BP_P: BP Precoce; BP_T: BP Tardio; Amp: Amplitude em μ V; BP_{NI}: pico de maior negatividade do BP . APB: abductor pollicis brevis; FD: Flexores dos dedos; FPD: Flexores do e dedos; ECR: extensor carpi radialis; OP: opponens pollicis; EI: extensor indicis; PDI: primam dorsi interosei; FPL: flexor pollicis longus; EDC: extensor digitorum communis; TA: tibialis anterior; VEOG: eletrooculograma vertical; HEOG: eletrooculograma horizontal; NI: não informado; NO: não obtido.

Tabela 2: Características do *Bereitschaftspotential* antes e depois da ação da levodopa

Autor, ano	Esquema de administração da levodopa	Alteração após administração da levodopa na DP	Achados relevantes
Fattapposta et al., 2002	Mínima dose oral efetiva determinada para cada paciente.	Redução da amplitude do BP, assemelhando-se aos valores dos controles.	Aumento da amplitude do potencial pós motor na DP após levodopa.
Oishi et al., 1995	Injeção intravenosa de Levodopa (0,25%, 20ml)	Houve aumentada amplitude e redução duração do BP, com tendência a normalização dos parâmetros em relação aos controles	
Dick et al., 1987	Levodopa (L-dopa + Carbidopa 275mg)	Houve aumentada amplitude e do pico de negatividade do BP em normais e controles.	Antagonistas dopaminérgicos (haloperidol ou metoclopramida) reduzem o pico de negatividade do BP em controles.

DP: Doença de Parkinson

Discussão:

Esta revisão revelou grande variabilidade na apresentação do BP precedendo diversos movimentos na DP. A grande maioria dos estudos avaliou este potencial pré-motor em movimento de mãos. Uma única investigação avaliou a dorsiflexão do pé e outra os movimentos sacádicos oculares. A distribuição do BP apresentou-se de forma ampla no escalpe mais evidente nas regiões centrais. As amplitudes e latências foram os dados mais analisados, com resultados variáveis nos diversos estudos.

Fatores técnicos podem justificar as divergências observadas, tais como o músculo analisado, as características do movimento (força, complexidade, agilidade, destreza, amplitude), o lado da realização do movimento em relação ao lado mais acometido pela DP, a localização dos eletrodos do EEG usados no registro, o número de promediações e o modo de análise. Fatores relacionados à amostra também são capazes de gerar resultados variados,

como quantidade de pacientes, tempo de doença, estágio sintomatológico, tipo de tratamento a que são submetidos e manutenção ou suspensão da droga antiparkinsoniana no momento do exame, por exemplo. A média de faixa etária foi predominante entre a sexta e a sétima década, com larga variação entre as idades mínimas e máximas. Este fator, porém, parece não influenciar o BP segundo estudo realizado por SINGH et al. (1990).

Dentre os 18 artigos avaliados integralmente, apenas cinco deles não observou qualquer alteração (amplitude, latência, inclinação ou localização) entre o BP na DP nos controles analisados durante movimentos repetitivos (BARRET, SHIBASAKI, NESHIGE, 1986b; SHIMIZU, OKIYAMA, 1993; DEFEBVRE et al., 1994; TOUGE et al., 1995; PRAAMSTRA et al., 1996b) e destes, três mantiveram o uso de medicação, levodopa em dois artigos e não especificada em outro (BARRET, SHIBASAKI, NESHIGE, 1986b; SHIMIZU, OKIYAMA, 1993; DEFEBVRE et al., 1994). O estagiamento da doença variou de I a IV H&Y e em seis deles não foi descrita esta classificação. Apesar da aparente normalidade do BP nestes estudos, dois deles demonstraram aumento da amplitude do BP durante escolha do movimento (TOUGE et al., 1995; PRAAMSTRA et al., 1996b) em controles, mas não na DP. SHIMIZU e OKIYAMA, (1993) relataram redução da frequência do BP na DP comparado aos controles.

A variabilidade de apresentação do BP na DP foi relatada por SIMPSON e KHURAIKET (1987) que examinaram 55 pacientes cujos resultados foram normais em 4%, reduzidos em 42% e ausentes ou substituídos por onda positiva em 54%. Estes autores sugerem que não há obrigatoriedade da presença do BP para realização do movimento, visto que vias acessórias não relacionadas à área motora suplementar poderiam ser ativadas com a finalidade de planejamento e ou modulação da motricidade.

A tentativa de compreender mecanismos de compensação do planejamento motor foram descritas por CUNNINGTON et al. (1999) que, por meio do paradigma de tempo de reação, relaciona as estratégias de atenção nos pacientes com DP de modo a tornar o processo motor mais consciente e menos automático. Estes autores observaram que pacientes não previamente instruídos a realização do exercício solicitado apresentaram maior tempo de reação e importante redução do potencial negativo precoce pré-movimento quando comparado aos controles e aos DP que receberam as instruções. Achados semelhantes foram descritos por FUMURO et al. (2013) que evidenciaram aumento amplitudes do BP precoce na DP, independente do estágio da doença, quando comparada aos controles após técnicas de neuro-feedback (NFB). Há, portanto, uma tentativa de compensar o planejamento motor,

decorrente de falhas nas vias subcorticais ganglionares que se interligam a AMS, por provável ativação de vias sensório-motoras mais relacionadas ao aprendizado motor e atenção (REMY et al., 1994; TYSZKA et al., 1994).

TOUGE et al. (1995) e PRAAMSTRA et al. (1996b) evidenciaram que movimentos semelhantes podem ter mecanismos de geração cortical diferentes por meio do aumento da amplitude do BP em pessoas normais durante escolha de um movimento em relação a realização do mesmo movimento de forma pré estabelecida. Este aumento não foi observado nos pacientes com Parkinson. VIDAILHET et al. (1993) relatou aumento do BP em controles durante iniciação da marcha, em relação a simples dorsiflexão, não sendo este incremento evidenciado na DP. Estes achados sugerem que as falhas nos mecanismos de planejamento motor na DP podem modular a excitabilidade cortical relacionada ao movimento voluntário de modo a interferir nos achados neurofisiológicos. Provavelmente a instrução quanto à realização do movimento, o NFB e a imaginação do movimento seqüencial melhoram a consciência, atenção e o planejamento motor, alterando as estratégias de realização do movimento. Desta forma influências cognitivas podem afetar o BP têmporo espacialmente entre os examinados, mas também variar em um mesmo indivíduo (CUI et al., 1999; CARRILLO-DE-LA-PEÑA, GALDO-ALVAREZ, LASTRA-BARREIRA, 2008).

As alterações nas amplitudes são bem descritas, apesar de haver sete descrições de manutenção dos valores normais dentre os 18 artigos avaliados quando comparados aos controles (BARRET, SHIBASAKI, NESHIGE, 1986B; VIDAILHET et al., 1993; SHIMIZU, OKIYAMA, 1993; DEFEBVRE et al., 1994; TOUGE et al., 1995; PRAAMSTRA et al., 1996B; FILIPOVIC et al., 2001). O resultado mais infreqüentemente observado foi o incremento na amplitude do BP precoce (FATTAPPOSTA et al., 2000 e 2002). Os fatores técnicos e amostrais, como previamente relatados, podem interferir no resultado dos estudos, sendo necessário estabelecimento de protocolos técnicos específicos para cada tipo de movimento, com a finalidade de atribuir limites de normalidade.

O componente tardio do BP, assim como o pico de maior negatividade que precede a atividade motora, em geral, encontra-se dentro da normalidade na DP (DICK et al., 1987; DICK et al., 1989; SHIMIZU, OKIYAMA, 1993; OISHI et al., 1995; JAHANSHAHI, et al., 1995; PRAAMSTRA et al., 1996b; CUNNINGTON et al., 1997; FILIPOVIC et al., 2001; GIRONELL et al., 2002; FUMURO et al., 2013). Este achado é consistente com a preservação das áreas relacionadas à execução motora nesta enfermidade.

PRAAMSTRA et al. (1999) descreve dificuldade em inibir um comando motor ambíguo na DP com lentificação na produção da força concomitante ao aumento na amplitudes do potencial de prontidão lateralizado (LRP), potencial cortical pré motor relacionado a área motora primária, geralmente obtido por reação de escolha e evidente durante movimentos complexos. Estes dados sugerem que além de preservar o córtex motor primário na DP, esta região provavelmente atua nos mecanismos de compensação do ato motor. Ao longo da progressão da doença, o aumento da amplitude do LRP refletiria o déficit no planejamento motor (VERLEGER et al., 2010), conforme observado pelo acometimento progressivo da pré-AMS e AMS observados na espectroscopia por Ressonância (WAYNE MARTIN et al., 2008) e por potenciais evocados (KRYLOV, 1998), respectivamente.

Outros achados que seguem este raciocínio foram descritos por LIMOUSIN et al. (1999) e GIRONELL et al. (2002) que realizou o BP antes e meses após palidotomia posteroventral unilateral em DP idiopático relatando melhora significativa no UPDRS, porém sem alteração no componente precoce do BP. No entanto, houve um aumento da amplitude do componente tardio deste potencial no lado contralateral. Estes achados sugerem que esta técnica terapêutica faz um “bypass” na área pré-AMS e melhora o desempenho motor agindo em estágios mais tardios da elaboração do movimento. A teoria do escape por meio de circuitos estratégicos também foi sugerida por PRAAMSTRA et al. (1998) que refere melhora do comportamento motor por estímulos visuais. CUNNINGTON et al. (1995) concluiu que estímulos externos na DP seguem vias alternativas não AMS para execução motora, escapando do circuito afetado e JAHANSHAH et al. (1995) correlacionou BP e tomografia por emissão de pósitrons entre movimentos auto iniciados e os estimulados externamente, demonstrando que os primeiros encontram-se comprometidos na DP comparado aos controles, não sendo observado o mesmo no segundo caso.

A duração do BP é outro parâmetro avaliado e na maioria dos estudos analisados não revelou diferença significativa entre os controles (SHIMIZU, OKIYAMA, 1993; DEFEBVRE et al., 1994; TOUGE et al., 1995 ; JAHANSHAH et al, 1995; FATTAPPOSTA et al., 2000; FILIPOVIC et al., 2001). Além dos fatores técnicos, distúrbios na geração do planejamento motor ou dos mecanismos modulatórios poderiam influenciar o início do BP, encurtando (SIMPSON, KHURAIBET, 1987) ou alargando (SHIBASAKI, SHIMA, KUROIWA, 1978; OISHI et al., 1995) a duração deste potencial na DP.

O acometimento motor na DP, em especial a bradicinesia, é responsável por importante limitação funcional e já está presente em fases iniciais da doença. Acredita-se que

este sinal cardinal seja decorrente do acometimento precoce e progressivo de vias dopaminérgicas relacionadas ao planejamento motor (BERARDELLI et al., 2001). Estes mecanismos também são ativamente influenciados por vias não dopaminérgica ou dopa resistente (ALMEIDA, BROWN, 2013). Apesar dos avanços na compreensão dos mecanismos envolvidos no planejamento motor, a tentativa de compensar a degeneração progressiva dos neurônios dopaminérgicos (GROGER et al., 2014), continua sendo utilizada como terapêutica padrão ouro no tratamento da DP (TOLOSA, KATZENSCHLAGER, 2006; PORRAS et al., 2014).

DICK et al. (1987) relatou aumento do BP precoce após uso oral de levodopa em DP e controles, assim como redução do BP precoce em controles após uso de antagonistas dopaminérgicos, sem alteração no BP tardio em nenhuma das situações, demonstrando a íntima relação entre as vias dopaminérgicas e a fase inicial do BP, porém sem acreditar que o acometimento desta via seja a única responsável pela bradicinesia na DP, já que o aumento ou diminuição do BP em controles não geram prejuízo ou melhora clínica nos mesmos. O aumento do BP precoce também foi demonstrado por OISHI et al. (1995) após injeção intravenosa de levodopa. Outro estudo que avaliou a influência da levodopa sobre o BP foi realizado por FATTAPPOSTA et al. (2002), porém neste caso houve redução da amplitude do BP, achado que se opõe aos previamente relatados. Apesar da resposta aparentemente oposta deste estudo, o mesmo revela a tendência de normalização da amplitude do BP em relação ao seu grupo controle, podendo ser justificado por alguma divergência na técnica de coleta ou análise dos potenciais.

Conclusão:

Os estudos analisados revelam ampla variabilidade da amplitude e latência do *Bereitschaftspotential* que precede o movimento na Doença de Parkinson. Esta variabilidade deve-se provavelmente a falta de padronização das normas técnicas de obtenção e análise do potencial. O estabelecimento de valores de referência para diversos tipos de movimentos são importantes para melhor aplicabilidade do BP. Sabe-se que há influência dopaminérgica sobre o planejamento motor, porém o significado dos efeitos da levodopa sobre o BP na DP ainda não estão de todo claro.

6.2 Capítulo 2

***Bereitschaftspotential* precedendo o piscamento palpebral espontâneo e voluntário em sujeitos normais**

Introdução

O piscamento palpebral é alvo do acometimento de inúmeras doenças neurológicas cursando com aumento da frequência; como observado em demências, distúrbios hiperkinéticos do movimento e esquizofrenia; ou redução da mesma, como ocorre nos parkinsonismos (STEVENS, 1978; CHEN et al., 2003; BOLOGNA et al., 2009; CHAN et al., 2010). Além da função protetora e umectante corneana, participa ativamente nos movimentos sacádicos, fixações, processamento cognitivo visual e expressões emocionais (DELGADO-GARCÍA et al., 2002, 2003). Clinicamente se apresenta sob a forma de movimentos espontâneos, voluntários e como respostas reflexas a diferentes modalidades sensoriais a depender de sua intensidade, duração e localização.

A fisiologia do piscamento espontâneo é influenciada por fatores ambientais, por aferência corneana direta ao complexo trigeminal espinal (KAMINER et al., 2011) e pela hipo ou hiper modulação dopaminérgica ganglionar basal (TAYLOR et al., 1999; KOROSSEC et al., 2006; COLZATO et al., 2008b; LADAS et al., 2013). O piscamento ocular voluntário ativa o córtex pré-motor (KATO, MIYAUCHI, 2013) com modulação subcortical dopaminérgica (KOROSSEC et al., 2006; AGOSTINO et al., 2008). A trama de conexões neurais, seus fatores facilitadores e inibidores, contudo, ainda não estão totalmente compreendidos (CRUZ et al., 2011).

O *Bereitschaftspotential* (BP) ou potencial de prontidão inicialmente descrito por Kornhuber e Deecke em 1964, é uma ferramenta neurofisiológica que permite o acesso às vias neurais corticais pré-motoras. Este potencial é avaliado pela promediação retrógrada do eletroencefalograma (EEG) iniciado cerca de um e meio a dois segundos antes do registro

eletromiográfico, composto por um componente precoce, relacionado ao planejamento motor e um componente tardio, referente à execução do movimento. O componente precoce seria um processo inconsciente enquanto o tardio, consciente (DEECKE et al., 1976; DEECKE, KORNHUBER, 1978; DEECKE, 1987; NESHIGE et al., 1988; CAVINESS, EVIDENTE, JOSHI, 1998; SHIBASAKI, HALLET, 2006).

O componente precoce do BP tem um padrão bilateral simétrico progredindo pelas regiões corticais representativas da área pré-motora suplementar (pré-AMS), motora suplementar (AMS) e córtex pré-motor lateral, respectivamente. O componente tardio assimétrico apresenta somatotopia clara no córtex motor contralateral ao movimento. O BP é influenciado pelo nível de atenção, aprendizado, complexidade, velocidade, força, habilidade e imaginação do movimento (DEECKE et al., 1998; SHIBASAKI, HALLET, 2006; KRANCZIOCH et al., 2010).

O presente estudo visa descrever os achados neurofisiológicos do BP no piscamento papebral espontâneo e voluntário de sujeitos saudáveis, com o objetivo de compreender a interferência do planejamento da motricidade nestas distintas formas de realização do ato motor.

Métodos

Sujeitos

Dezoito voluntários saudáveis (dez mulheres), entre 17 e 60 anos (média 35 anos) foram incluídos no estudo. Esta investigação foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, parecer nº 90.208 – CEP/CCS em 06 de setembro de 2012.

Procedimentos

Os sujeitos sentavam confortavelmente numa poltrona e foram orientados a olhar adiante evitando mover a musculatura do pescoço e face. Os piscamentos foram registrados sob duas condições: espontâneos e voluntários. Durante os registros dos piscamentos espontâneos, os sujeitos assistiam a um filme em uma tela colocada na altura dos olhos e a cerca de dois metros de distância. Para o registro dos piscamentos voluntários o paciente fixava um ponto colocado no centro da tela, sendo orientado a piscar a cada cinco segundos. O ritmo de piscamento foi treinado com o paciente antes do início dos registros.

O EEG foi obtido a partir de uma touca com dezenove canais segundo o sistema internacional 10-20. Além dos eletrodos da touca foram utilizados dois eletrodos retroauriculares, que interligados, foram utilizados como referência e dois eletrodos (G1 localizado um cm acima da pálpebra superior e G2 há um cm abaixo da pálpebra inferior) para o registro do eletro-oculograma vertical (VEOG). O eletrodo terra foi colocado na clavícula direita.

Os registros foram realizados por um polígrafo Neuron-Spectrum. NET da marca Neurosoft. Os filtros utilizados foram de 0.1 Hz (passa alta) e 35 Hz (passa-baixa). As impedâncias (10 Hz) foram mantidas abaixo de $3k\Omega$.

Análise dos dados

Os piscamentos foram marcados visualmente no início da deflexão positiva no eletrodo VEOG e promediados três segundos antes e dois segundos depois. Foram promediados uma média de 35 piscamentos na condição de piscamento espontâneo e 49 na condição de piscamento voluntário. Foram eliminados os piscamentos que apresentavam artefatos no período de análise. As promediações foram salvas em arquivos textos e posteriormente analisados num programa dedicado escrito em Matlab. Este programa lia os arquivos textos, exibia-os na tela e realizava as medições a serem utilizadas na análise estatística.

Inicialmente as ondas obtidas pela promediação geral de todos os sujeitos foram observadas para definição dos pontos de medição. Estes pontos foram estabelecidos em -1800ms (anterior ao início do potencial pré-motor da média geral), -500ms (anterior ao início do componente tardio) e 0ms (ponto de maior amplitude do potencial pré-motor,

imediatamente anterior ao início do potencial de piscamento). Para compensar o ruído de fundo foram promediadas as amplitudes em um segmento de 100ms com centro na latência a ser medida.

A análise estatística das amplitudes do BP foi realizada nos eletrodos C3, Cz e C4. Para análise, foi utilizado o pacote estatístico STATISTICA versão 10 (Start Soft). A análise inferencial foi realizada através de análise de variância (ANOVA) de medições repetidas, condição (espontâneo e voluntário), latência (-1800ms, -500ms, 0ms) e eletrodo (C3, Cz, C4). Para análise Post-hoc foi utilizado o teste de Newman-Keuls. O p crítico foi estabelecido em 0.05.

Resultados

A figura 1 mostra as promediação das ondas registradas nas posições F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4, O1 e O2 do sistema 10-20 de posicionamento de eletrodos.

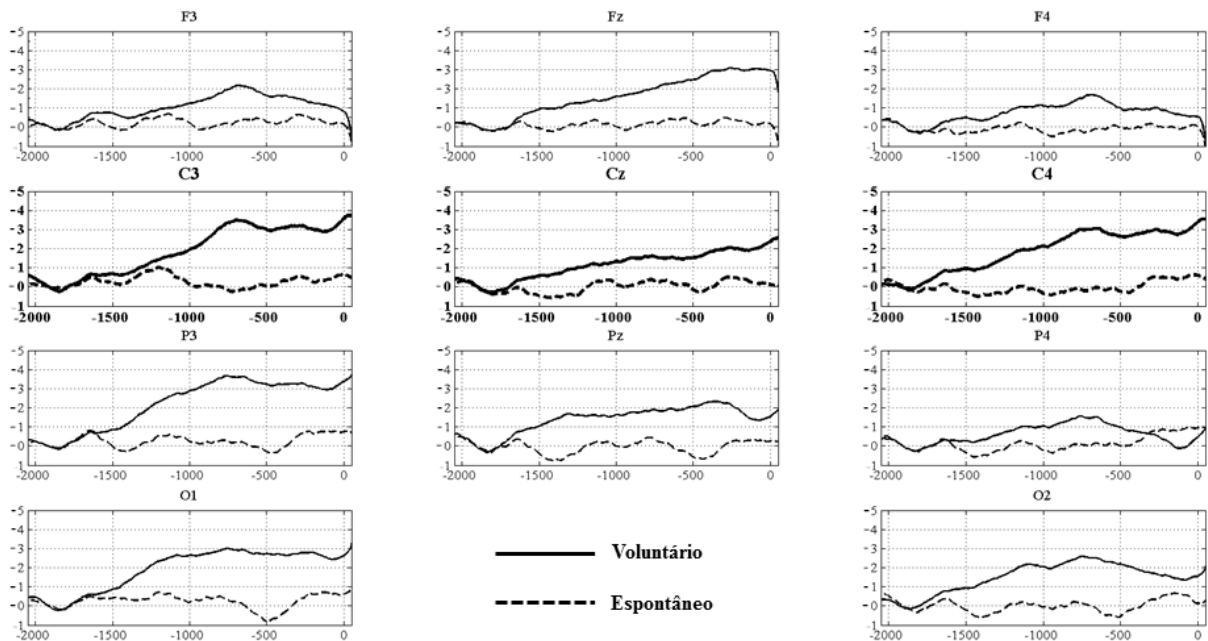


Figura 1: Promediação do EEG registrado em 11 eletrodos (F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4, O1 e O2) no período de 2 segundos precedendo o piscamento voluntário (linha contínua) e espontâneo (linha tracejada) de todos os sujeitos estudados. No eixo das abscissas está representado o tempo decorrido em milissegundos em relação ao início do potencial de piscamento (tempo zero). No eixo das ordenadas estão representadas as

amplitudes em μV . O início do BP precedendo o piscamento voluntário situa-se em torno de -1800 ms. Não se visualiza um BP precedendo o piscamento espontâneo.

Na condição piscamento voluntário (linha grossa contínua da Figura 1) observa-se um potencial negativo de amplitude crescente iniciando-se em torno de 1700ms antes do início do piscamento. Este potencial tem campo amplo, podendo ser observado em todos os eletrodos com maior amplitude nas regiões centrais e parietais. Entre 700ms e 500ms antes do potencial de piscamento, observa-se uma mudança na configuração da onda. Estes potenciais não são obtidos na promediação das ondas que precedem os piscamentos espontâneos (linha tracejada da Figura 1).

A figura 2 mostra os gráficos das medidas de amplitudes obtidas dos eletrodos C3, Cz e C4. A tabela 1 mostra a ANOVA destes dados.

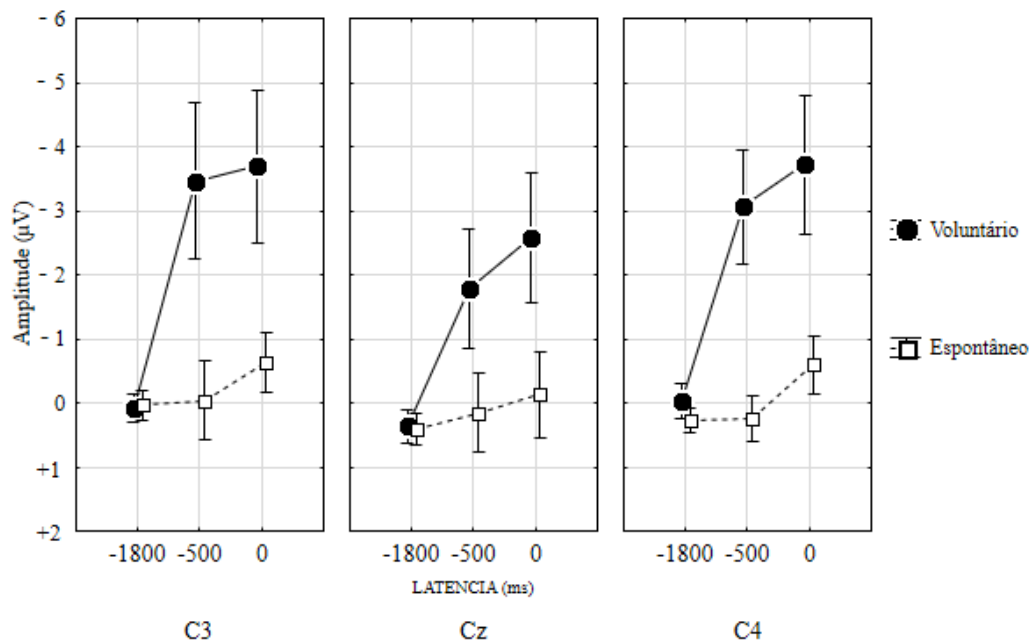


Figura 2: Amplitudes obtidas nos eletrodos C3, Cz e C4 nas latências zero, -500 e 1800 ms precedendo o potencial de piscamento. **CONDIÇÃO:** Os piscamentos voluntários são representados pelos círculos preenchidos; os piscamentos espontâneos pelos quadrados vazados. **ELETRODOS:** são representados nos 3 gráficos lado a lado: à esquerda C3, ao centro Cz e à direita C4. **LATÊNCIA:** representadas nos eixos horizontais (x). As amplitudes são medidas no eixo vertical (y). As barras verticais representam os erros padrões.

Tabela 1: Análise de variância de medições repetidas das amplitudes do potencial pré-motor de sujeitos normais entre **CONDIÇÃO** (piscamento voluntário e espontâneo), **LATÊNCIA** (-1800, -500 e 0 ms em relação ao início do potencial de piscamento) e **ELETRODO** (C3, Cz e C4).

	SS	DF	MS	F	P
<i>Intercepto</i>	220.6721	1	220.6721	7.6420	0.0184
Erro	317.6396	11	28.8763		
CONDIÇÃO	206.3464	1	206.3464	9.9576	0.0091
Erro	227.9475	11	20.7225		

LATÊNCIA	165.8406	2	82.9203	7.8905	0.0026
Erro	231.1946	22	10.5088		
ELETRODO	19.2787	2	9.6394	3.6197	0.0437
Erro	58.5867	22	2.6630		
CONDIÇÃO*LATÊNCIA	93.5088	2	46.7544	4.9596	0.0167
Erro	207.3953	22	9.4271		
CONDIÇÃO *ELETRODO	6.2934	2	3.1467	1.0498	0.3669
Erro	65.9440	22	2.9975		
LATÊNCIA *ELETRODO	3.3335	4	0.8334	1.0019	0.4168
Erro	36.5997	44	0.8318		
CONDIÇÃO * LATÊNCIA *ELETRODO	3.9314	4	0.9829	1.4459	0.2350
Erro	29.9098	44	0.6798		

SS: sum of squares (soma dos quadrados); DF: degrees of freedom (grau de liberdade); MS: mean square (soma dos quadrados); F: fatorial; P: probabilidade.

A ANOVA mostrou uma interação significativa ($F=4.9596$, $p=0.0167$) entre CONDIÇÃO e LATÊNCIA e um efeito principal significativo ($F=3.6197$, $p=0.0437$) para ELETRODO.

A figura 3 ilustra a interação CONDIÇÃO e LATÊNCIA e a tabela 2 mostra a análise Post-hoc (teste de Neuman- Keuls) desta interação.

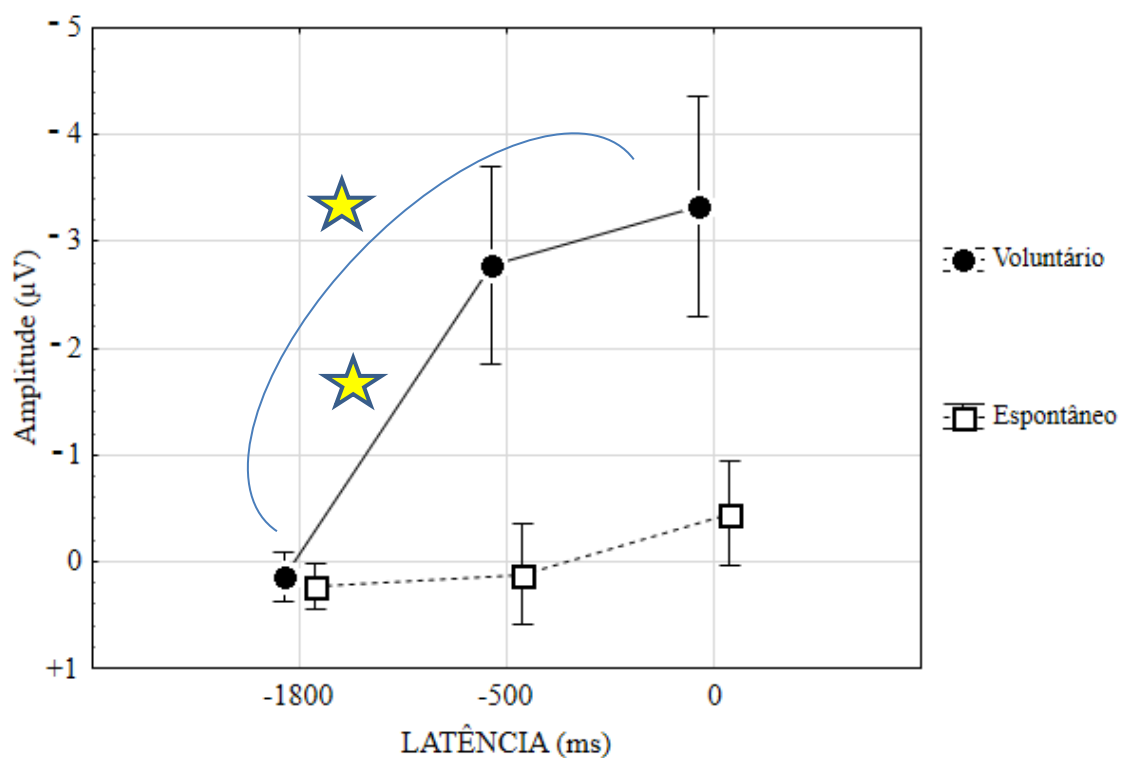


Figura 3: Interação entre CONDIÇÃO e LATÊNCIA. CONDIÇÃO: Os piscamentos voluntários são representados pelos círculos preenchidos; os piscamentos espontâneos pelos quadrados vazados. As LATÊNCIAS são representadas no eixo horizontal (x). As amplitudes são medidas no eixo vertical (y). As barras verticais representam os erros padrões.

Tabela 2: Análise post hoc (teste de Newman-Keuls) da interação CONDIÇÃO * LATÊNCIA

CONDIÇÃO (tipo de piscamento) * LATÊNCIA (ms)	P
Voluntário em -1800 * Voluntário em 0ms	0.0008
Voluntário em -1800 * Voluntário em -500 ms	0.0031
Voluntário em -500 * Voluntário em 0 ms *	0.4510
Espontâneo em -1800 * Espontâneo em 0ms	0.7819
Espontâneo em -1800 * Espontâneo em -500 ms	0.4394
Espontâneo em -500 * Espontâneo em 0 ms *	0.9868

Na condição piscamento voluntário, as amplitudes nas latências de -500ms e 0ms são significativamente maiores do que as amplitudes das latências -1800ms ($p= 0.0031$ e 0.0008 , respectivamente). As amplitudes nos pontos -500ms e 0ms não foram significativamente diferentes ($p= 0.04510$). Na condição piscamento espontâneo, as amplitudes não foram estatisticamente diferentes (-500ms x -1800ms, $p= 0.9868$; 0ms x -1800ms, $p= 0.7819$; -1800ms x -500ms, $p=0.04394$). Estes dados são consistentes com a presença de um BP precedendo o piscamento voluntário, mas não o piscamento espontâneo.

A figura 4 ilustra o efeito principal eletrodo e a tabela 3 mostra a análise Post hoc do efeito principal eletrodo.

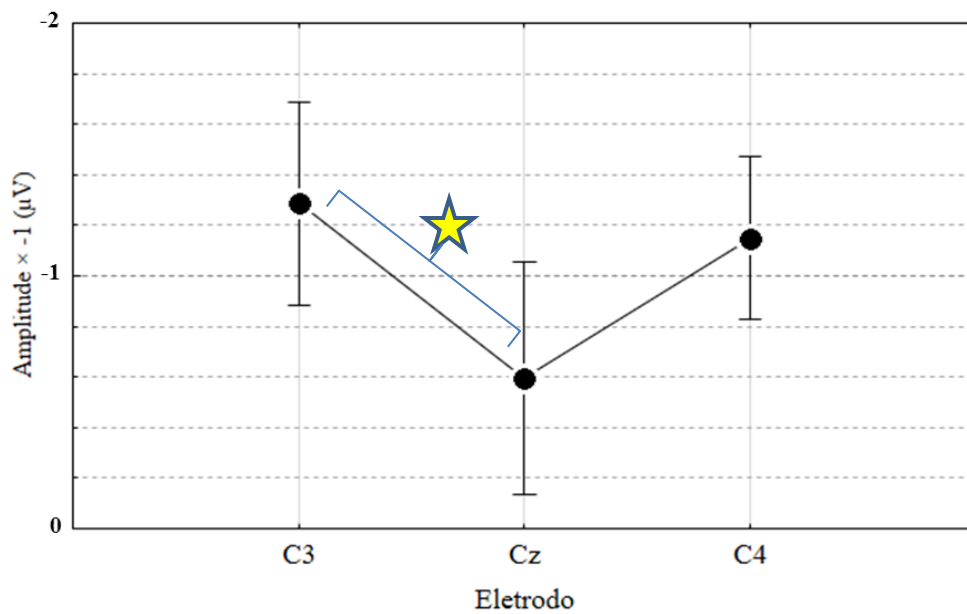


Figura 4: Efeito principal ELETRODO. Os círculos preenchidos representam as médias gerais das amplitudes dos potenciais dos piscamentos nos ELETRODOS C3, Cz e C4, representados no eixo horizontal. As amplitudes são medidas no eixo vertical (y). As barras verticais representam os erros padrões.

Tabela 3: Análise post hoc (teste de Newman-Keuls) do efeito principal ELETRODO.

ELETRODOS	P
C3 * Cz	0.0473
C4 * Cz	0.0538
C3 * C4	0.6213

A amplitude em C3 foi em geral significativamente maior do que a amplitude em Cz ($p= 0.0473$), enquanto a amplitude em C4 foi maior do que a amplitude em Cz, porém a diferença não chegou a atingir significância estatística ($p= 0.0538$). As amplitudes entre C3 e C4 não foram estatisticamente diferentes ($p= 0.6213$).

Discussão

Esta pesquisa demonstrou que existe potencial pré-motor precedendo o piscamento voluntário em sujeitos normais. Este potencial não foi visualizado precedendo piscamento espontâneo. Não foram caracterizadas diferenças significativas entre as amplitudes do componente precoce e tardio do BP. Esta onda negativa distribui-se amplamente no couro cabeludo e sua amplitude é maior nas regiões centrais.

Existem poucos estudos sobre o potencial pré-motor no piscamento ocular. Além de um pôster publicado por KOROSEK e PIRTOSEK (2000), temos conhecimento de apenas um artigo publicado (BERARDELLI et al. 1985), ambos correlacionando o BP de piscamentos oculares em controle e pacientes com blefaroespasmos. Os autores não encontraram o BP precedendo o blefaroespasma, enquanto que o observaram precedendo piscamento voluntário dos pacientes e controles. Ambos os estudos não fornecem uma descrição detalhada e comparativa destes achados.

A não obtenção do potencial pré-motor precedendo o piscamento espontâneo pode ter diversas explicações. A redução acentuada da amplitude pode não ter sido caracterizada em nossos dados pelo número reduzido de sujeitos. O registro desta condição é tecnicamente difícil. As sessões de registro são longas, pois muitos piscamentos não podem ser usados na promediação pela ocorrência de artefatos no período analisado (movimentos oculares, piscamentos muito próximos, artefatos musculares, dentre outros). Em nossos dados o número de piscamentos espontâneos que puderam ser promediados foi menor do que o dos piscamentos voluntários. O ruído de fundo dos registros foi bem maior durante o registro dos piscamentos espontâneos, sendo, portanto, a relação sinal ruído deste tipo de piscamento muito pior comparada ao registro dos voluntários. Isto pode ser observado pela linha de base irregular dos registros da figura 1.

Por outro lado, o BP pode está ausente precedendo os movimentos espontâneos, decorrente possivelmente da menor influência cortical comparada ao piscamento voluntário devido à ausência de planejamento consciente, implicando na maior atuação de estruturas subcorticais em detrimento das corticais. Há uma relação inversa entre o piscamento espontâneo e tarefas que exijam atenção (COLZATO et al., 2008a; OH, JEONG, JEONG, 2012). A modulação do processamento cognitivo relacionada à atenção apresenta interferência noradrenérgica e dopaminérgica, ativando estruturas subcorticais e corticais frontal, parietal e temporal em acordo com estudos de neuroimagem e neurocomputacional (ASTON-JONES, COHEN, 2005; NIEUWENHUIS et al., 2005; HOMMEL et al., 2006; COLZATO et al., 2008b; CHAN et al., 2010). Sendo assim, o automatismo deste piscamento não pode ser considerado um simples ato reflexo, mas uma via inconsciente de expressão neurocognitiva. O piscamento espontâneo é um interessante modelo para o estudo da atividade elétrica pré-motora involuntária, pela dificuldade técnica da análise neurofisiológica de movimentos repetitivos inconscientes. A realização de outros estudos com maior número de promediações e maior controle dos artefatos poderia elucidar as incertezas apontadas pelo presente estudo.

Os BPs obtidos neste estudo, precedendo o piscamento voluntário, apresentam ampla distribuição no escalpe, assim como observado previamente em sácades aculares (SHIMIZU, OKIYAMA, 1993; YAMAMOTO et al., 2004), movimentos de abertura da boca (YOSHIDA et al., 1999), vocalização (GALGANO, FROUD, 2008; McARDLE et al., 2009), respiração (GALGANO, FROUD, 2008), flexão, extensão, pronação ou supinação do punho (PRAMSTRA et al., 1996; IKEDAAT et al., 1997), flexão do polegar (SINGH et al., 1990) e dorsoflexão do pé (VIDAILHET et al., 1993; YAMAMOTO et al., 2004).

Foram obtidos BPs com amplitudes mais evidentes em eletrodos laterais (C3 e C4) comparado ao Cz dos potenciais previamente descritos (PRAMSTRA et al., 1996; YOSHIDA et al., 1999; SHIBASAKI, HALLET, 2006). Este achado pode estar relacionado a influencia do campo visual frontal (YAMAMOTO et al, 2004) sobre a área motora suplementar. Estudos utilizando técnicas de análises de geradores poderiam elucidar esta questão. Outra possibilidade é o planejamento deste ato motor ou a tarefa executada ter maior interferência cortical lateral pré-motora em detrimento da área motora suplementar, porém estas afirmações necessitam de maior investigação. O córtex pré-motor lateral participa juntamente com área motora suplementar do planejamento motor, sendo esta mais relacionada aos movimentos gerados internamente, mas também participa da modulação de movimentos voluntários

decorrentes de estímulos externos. A atuação cortical lateral no planejamento está mais envolvida na atenção e aprendizado motor, além de ser evidentemente ativada durante estímulos externos (PRAAMSTRA et al., 1996). Assim ambas as regiões podem participar do planejamento motor a depender da forma e das características do movimento e de suas necessidades modulatórias.

Nossos resultados não revelaram diferenças estatisticamente significantes entre a amplitude do BP precoce e do BP tardio, porém em torno de -500ms é possível visualizar uma alteração morfológica da onda possivelmente correspondente a características distintas entre estas duas fases. Este fato pode ser explicado pela reduzida amplitude do BP no piscamento ocular e pela pequena diferença de amplitude entre estas duas fases.

FUMURO et al. (2013) registrou potenciais pré-motores precedendo breve compressões em um botão com o polegar a um ritmo determinado pelo paciente de aproximadamente 10 segundos. Foram medidos os potenciais de modo muito semelhante aos usados neste trabalho, isto é em torno de -500ms antes da impressão no botão e na fase mais negativa do potencial pré-motor. O potencial mais negativo tinha amplitude em torno de 11 uV enquanto que a amplitude em torno de -500ms foi em torno de 6 uV. PRAMSTRA et al. (1996) em seu paradigma registrou potenciais com amplitudes muito semelhantes em torno de 10 uV no ponto de maior negatividade. Estas amplitudes são bem maiores do que as obtidas por nosso estudo (3.3 μ V) precedendo piscamento voluntário durante a maior negatividade. Paradigmas utilizando músculos faciais descrevem amplitudes médias, durante a maior negatividade, de valores mais próximos aos observados em nosso estudo, como o precedendo a abertura de boca, 3.8 μ V (YOSHIDA et al., 1999) e durante a vocalização de uma simples palavra, entre 4 a 5 μ V (GALGANO, FROUD, 2008; McARDLE et al., 2009).

As latências iniciais dos potenciais obtidos nesta pesquisa são muito semelhantes aos valores obtidos em outros movimentos voluntários (SHIMIZU, OKIYAMA, 1993; PRAMSTA et al., 1996; YOSHIDA et al., 1999; FUMURO, et al., 2013). Início mais precoce do BP foi observado precedendo a fala simples, seguido da leitura da palavra e da fluência verbal, -2000ms, -2.500ms e -2.800ms, respectivamente (McARDLE et al., 2009). Início tardio do BP precedendo o piscamento ocular voluntário, -500ms, foi descrito por BERARDELLI et al. (1985). Provavelmente esta latência relaciona-se ao início do BP tardio, não tendo sido visualizado a fase precoce devido à promediação retrograda de apenas -1000ms, descrita na metodologia do estudo, e a discreta alteração de amplitude entre as duas fases, conforme relatado em nossos achados.

A volição com posterior execução motora resulta de um complexo circuito neural entre regiões corticais e subcorticais, por meio do equilíbrio entre vias de ativação e inibição, diferenciando a qualidade dos estímulos recebidos, interrompendo os impulsos indesejados, controlando as características do movimento e modulando a programação motora por meio da plasticidade sináptica (SCHROLL, HAMKER, 2013). Dessa forma, a prontidão inconsciente inicial do planejamento motor é representado pelo BP precoce, que segue a consciência executiva expressa pelo BP tardio (SHIBASAKI, HALLET, 2006). O planejamento motor é fundamental à elaboração do piscamento ocular voluntário, mesmo após 10 minutos de repetição, o que poderia causar uma possível habituação do ato motor. Provavelmente o ato de pensar em piscar, a cada 10 segundos, ativa repetidamente as vias do funcionamento motor, conforme relatado previamente por estudos de imaginação do movimento (TYSZKA et al., 1994, CUNNINGTON et al., 1997, CARRILLO-DE-LA-PEÑA, GALDO-ALVAREZ, LASTRA-BARREIRA, 2008; KRANCZIOCH et al., 2010).

Em suma, esta é a primeira investigação sistemática da presença de potenciais pré-motores precedendo o piscamento ocular voluntário. Nossos achados denotaram a presença de um BP de latência e localização semelhantes aos potenciais pré-motores descritos em outros movimentos, apesar de uma tendência a lateralização central esquerda no nosso estudo. A amplitude destes potenciais apresentaram amplitudes reduzidas quando comparada a movimento de musculatura apendicular, porém assemelham-se a amplitudes de outros movimentos faciais. Estes achados aprimoram o conhecimento acerca dos mecanismos geradores do piscamento palpebral e conseqüentemente o uso clínico futuro do BP quanto ao auxílio diagnóstico e acompanhamento evolutivo de comorbidades neurológicas cognitivas e extrapiramidais, além de distúrbios psiquiátricos que acometem este ato motor. No entanto, novos estudos com a finalidade de estabelecer protocolos técnicos e valores de referência da normalidade são necessários.

6.3 Capítulo 3

Bereitschaftspotential* precedendo o piscamento palpebral na Doença de Parkinson nos períodos *Off* e *On

Introdução

O aumento da prevalência e incidência da Doença de Parkinson (DP) com o aumento da expectativa de vida da população (MABTRILA, RINNE, 1976; EL-TALLAWY et al., 2013), tornou-a a segunda desordem neurodegenerativa mais freqüente (FERNANDEZ, 2012; NEEDHAM, WORTH, 2012). Acarreta relevante impacto socioeconômico e na qualidade de vida de seus portadores e cuidadores devido à progressiva dependência física em atividades de vida diária, além da posterior deterioração cognitiva (GARCÍA-RAMOS et al., 2013; REDDY et al., 2014).

A hipomimia ou fâcies em máscara na DP caracteriza-se pela reduzida expressividade muscular facial automática e voluntária desde os estágios iniciais, progredindo com o avançar da doença (KOROSEC et al., 2006) e gerando implicações sociais devido à aparência inexpressiva, apática, depressiva e introspectiva (TICKLE-DEGNEN et al., 2011). Este sinal é um dos componentes da vasta apresentação da bradicinesia, definida pela lentificação no desempenho do movimento e na prática clínica, compreende a dificuldade em iniciá-lo (*freezing*), a redução da amplitude (hipocinesia), a disritmia e a pobreza da motricidade espontânea e associada (acinesia) (BERARDELLI et al., 2001; ESPAY et al., 2011; ALMEIDA, BROWN, 2013). Dentre os achados da hipomimia, destaca-se a diminuição da freqüência do piscamento palpebral pelas diferentes vias relacionadas ao planejamento e execução deste ato motor.

A bradicinesia decorre de danos neuronais às vias relacionadas ao planejamento da motricidade (BERARDELLI et al., 2001). Falhas nos circuitos dopaminérgicos e não

dopaminérgicos têm sido implicados nesta fisiopatologia, gerando desequilíbrio entre inibição e excitação, déficits e compensações (ALMEIDA, BROWN, 2013; YU et al., 2013; GROGER et al., 2014). Alterações nas vias dopaminérgicas explicam, ao menos em parte, distúrbios na cinemática do piscamento palpebral espontâneo (DEUSCH, GODDEMEIER, 1998; TAYLOR et al., 1999; COLZATO et al., 2008), voluntário (AGOSTINO et al., 2008) e na habituação do reflexo de piscamento da DP (PENDERS, DELWAIDE, 1971).

O tratamento farmacológico com medicações dopaminérgicas, consideradas padrão ouro (TOLOSA, KATZENSCHLAGER, 2006; PORRAS et al., 2014) resulta em resolutividade parcial da bradicinesia, por melhorar a velocidade do movimento (DEUSCH, GODDEMEIER, 1998; TAYLOR et al., 1999; AGOSTINO et al., 2008), mas não seu ritmo e amplitude (ESPAY et al., 2011), embora os danos a amplitude sejam os mais evidentes (KOROSEC et al., 2006).

O *Bereitschaftspotential* (BP) ou potencial de prontidão descrito por Kornhuber e Deecke em 1964 corresponde ao gradiente negativo iniciado um e meio a dois segundos antes do potencial motor visualizado por promediação retrógrada do eletroencefalograma (EEG). Este potencial se subdivide num componente precoce relacionado ao planejamento e um potencial tardio relacionado à execução motora (DEECKE, KORNHUBER, 1978; CAVINESS, EVIDENTE, JOSHI, 1998; SHIBASAKI, HALLET, 2006; COLEBATCH, 2007). Este estudo visa avaliar o piscamento ocular na DP nos estágios *Off* (sem levodopa) e *On* (com levodopa) por meio do BP.

Métodos

Sujeitos

Dez pacientes com DP (média de 58 anos e quatro anos do diagnóstico da doença) foram recrutados aleatoriamente no Serviço de Atenção ao Paciente Parkinsoniano (Pró-Parkinson) do Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os controles foram dezoito sujeitos saudáveis (oito homens) com idade entre 17 e 60 anos (média de 35 anos), em sua maioria acompanhante dos pacientes com DP. A tabela 1 lista algumas características demográficas e clínicas dos pacientes estudados.

Tabela 1: Caracterização dos sujeitos com Doença de Parkinson

Paciente	Sexo	Idade (anos)	Tempo de doença (anos)	Hoehn & Yahr
1	♂	43	8	3
2	♂	44	3	1
3	♂	48	6	2
4	♀	52	2	1
5	♂	58	4	1
6	♂	58	4	2
7	♂	61	3	1
8	♂	61	5	1
9	♂	70	1	2
10	♂	86	6	1

♂: Masculino; ♀: Feminino

Nenhum sujeito utilizava medicação não antiparkinsoniana que potencialmente afetasse as vias dopaminérgicas ou apresentavam enfermidade que comprometesse o piscamento palpebral. Todos os sujeitos apresentaram Mini Exame do Estado Mental normal.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, parecer nº 90.208 – CEP/CCS em 6 de setembro de 2012. Todos os sujeitos assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

Procedimentos

Os sujeitos sentavam confortavelmente numa poltrona e eram orientados a olhar para a frente evitando mover a musculatura do pescoço e face. Durante os registros o paciente fixava um ponto colocado há dois metros de distância na altura da cabeça, sendo orientado a piscar a cada dez segundos.

Os pacientes que preencheram os referidos critérios foram convidados a retornar outro dia pela manhã antes da tomada da medicação antiparkinsoniana, após cerca de doze horas de sua última tomada, para a realização da primeira etapa (*Off*). Foram também orientados a evitar ingestão de alimentos protéicos nesta ocasião. Aplicou-se a escala UPDRS (UPDRS, 2003; VASSAR, 2012).

Inicialmente foram registrados os piscamentos voluntários durante a fase *Off* após comando e breve treinamento de “piscar a cada 10 segundos”. Em seguida foi oferecido Levodopa+Benserazida 100/25 mg, um comprimido dispersível, e após 40 minutos, realizada a segunda etapa do estudo (*On*). Os mesmos procedimentos realizados no paciente *Off* foram repetidos. Os controles realizaram o exame de forma semelhante, porém sem necessidade da fase *On*.

O EEG foi obtido a partir de uma touca com dezenove canais segundo o sistema internacional 10-20. Além dos eletrodos da touca foram utilizados dois eletrodos retroauriculares, que interligados, foram utilizados como referência e dois eletrodos (G1 localizado um cm acima da pálpebra superior e G2 há um cm abaixo da pálpebra inferior) para o registro do eletro-oculograma vertical (VEOG). O eletrodo terra foi colocado na clavícula direita.

Os registros foram realizados por um polígrafo Neuron-Spectrum. NET da marca Neurosoft. Os filtros utilizados foram de 0.1 Hz (passa alta) e 35 Hz (passa-baixa). As impedâncias (10 Hz) foram mantidas abaixo de 3k Ω .

Análise dos dados

Os piscamentos foram marcados visualmente no início da deflexão positiva no eletrodo VEOG e promediados três segundos antes e dois segundos depois. Foram promediados uma média 43 (DP=25) piscamentos voluntários na fase *Off* e 40 (DP=12) piscamentos voluntários na fase *On* para cada sujeito com DP e uma média de 49 (DP=22) piscamentos para cada controle. Foram eliminados os piscamentos que apresentavam artefatos no período de análise. As promediações foram salvas em arquivos textos e posteriormente analisados num programa dedicado escrito em Matlab. Este programa lia os arquivos textos, exibia-os na tela e realizava as medições a serem utilizadas na análise estatística.

Inicialmente as ondas obtidas pela promediação geral de todos os sujeitos foram observadas para definição dos pontos de medição. Estes pontos foram estabelecidos em -1800ms (anterior ao início do potencial pré-motor da média geral), -500ms (anterior ao início do componente tardio) e 0ms (ponto de maior amplitude do potencial pré-motor, imediatamente anterior ao início do potencial de piscamento). Para compensar o ruído de

fundo foram promediadas as amplitudes em um segmento de 100ms com centro na latência a ser medida.

A análise estatística das amplitudes do BP foi realizada nos eletrodos C3, Cz e C4. Para análise foi utilizado o pacote estatístico STATISTICA versão 10 (Start Soft). A análise inferencial foi realizada através de análise de variância (ANOVA). Um ANOVA de medições repetidas, CONDIÇÃO (*Off* e *On*), LATÊNCIA (-1800ms, -500ms, 0s) e ELETRODO (C3, Cz, C4) foi utilizada para comparar o grupo de parkinsonianos na fase *Off* e *On*. Uma ANOVA modelo misto, com dois grupos (DP e controles) e duas medições repetidas: latência (-1800ms, -500ms, 0ms) e eletrodo (C3, Cz, C4) foi utilizada para comparar os pacientes parkinsonianos em geral com os controles. Para análise Post-hoc foi utilizado o teste de Newman-Keuls. O p crítico estabelecido em 0.05.

Resultados

BP em pacientes parkinsonianos em fase *Off* e *On*

A figura 1 mostra a promediação do EEG registrado em 11 eletrodos (F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4, O1 e O2) de todos os 10 pacientes com DP na fase *off* (linha tracejada) e *on* (linha contínua)

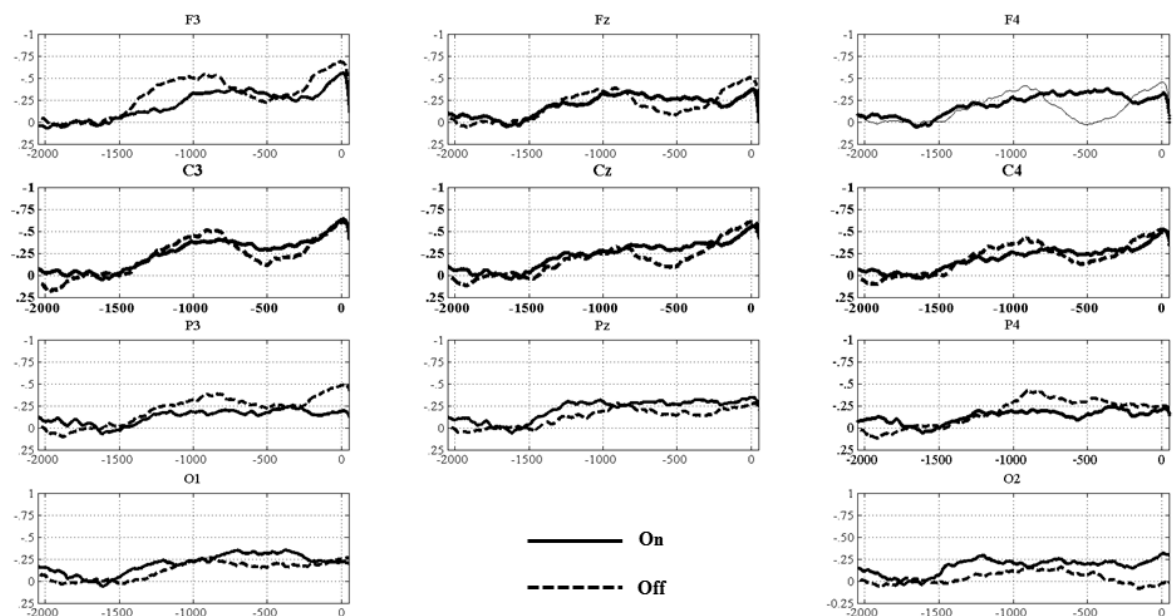


Figura 1: Promediação geral do EEG registrado em 11 eletrodos (F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4, O1 e O2) no período de 2 segundos precedendo o piscamento voluntário de todos os pacientes em fase *off* (linha tracejada) e *on* (linha contínua). No eixo das abscissas está representado o tempo em milissegundos (ms) em relação ao início do potencial de piscamento (tempo zero). No eixo das ordenadas estão representadas as amplitudes em microvolts (μV). O início do BP situa-se em torno de -1500 ms. Não se visualizam diferenças óbvias entre os potenciais obtidos na fase *off* ou *on*.

Em ambas as condições observam-se um potencial negativo de amplitude crescente iniciando-se em torno de -1500ms antes do início do piscamento. Este potencial tem campo amplo, podendo ser observado em todos os eletrodos com maior amplitude nas regiões centrais. Em torno de -500ms antes do potencial de piscamento observa-se uma mudança na configuração da onda.

A figura 2 mostra os gráficos das medidas obtidas dos eletrodos C3, Cz e C4 e a tabela 2 mostra a análise variância destes dados.

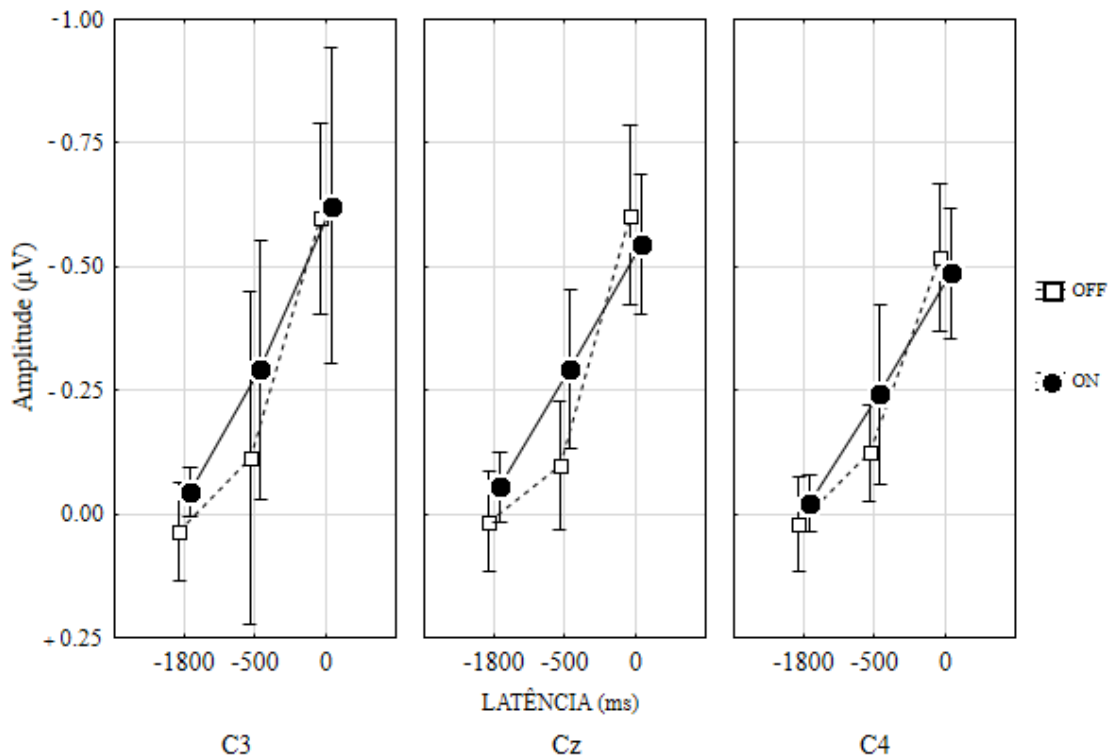


Figura 2: Médias das amplitudes (em μV) dos potenciais promediados dos pacientes Parkinsonianos nas CONDIÇÕES *off* (quadrados vasados) e *on* (círculos preenchidos) nas LATÊNCIAS zero, -500 e 1800 ms precedendo o início do potencial de piscamento, nos ELETRODOS C3 (esquerda), Cz (centro) e C4 (direita). As barras verticais representam os erros padrões.

Tabela 2: Análise de variância de medições repetidas das amplitudes do BP dos pacientes com DP entre CONDIÇÃO (fases *off* e *on*), LATÊNCIAS (-1800, -500 e 0 ms em relação ao início do potencial de piscamento) e ELETRODO (C3, Cz e C4).

	SS	DF	MS	F	P
<i>Intercepto</i>	11.7064	1	11.7064	12.1453	0.0069
Error	8.6748	9	0.9639		
CONDIÇÃO	0.2119	1	0.2119	0.2841	0.6069
Erro	6.7135	9	0.7459		
LATÊNCIA	9.5521	2	4.7761	7.0716	0.0054
Erro	12.1569	18	0.6754		
ELETRODO	0.0631	2	0.0315	0.0991	0.9062
Erro	5.7302	18	0.3183		
CONDIÇÃO * LATÊNCIA	0.2600	2	0.1300	0.2754	0.7624
Erro	8.4943	18	0.4720		
CONDIÇÃO * ELETRODO	0.0205	2	0.0103	0.2074	0.8146
Erro	0.8899	18	0.0494		
LATÊNCIA * ELETRODO	0.0642	4	0.0161	0.1756	0.9495
Erro	3.2928	36	0.0915		
CONDIÇÃO * LATÊNCIA * ELETRODO	0.0178	4	0.0045	0.0633	0.9923
Erro	2.5341	36	0.0704		

SS: sum of squares (soma dos quadrados); DF: degrees of freedom (grau de liberdade); MS: mean square (soma dos quadrados); F: fatorial; P: probabilidade.

Houve um efeito principal significativo para LATÊNCIA. A figura 3 ilustra este o efeito principal.

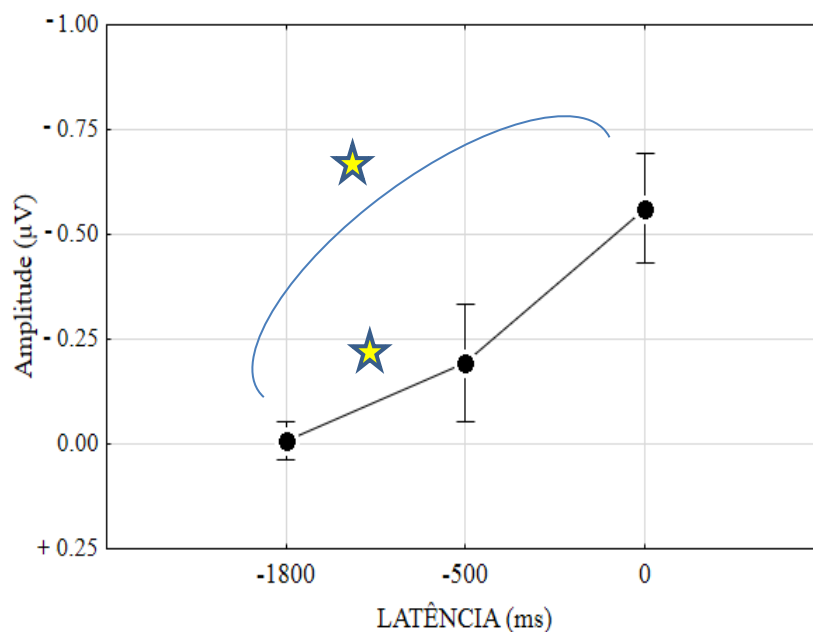


Figura 3: Efeito principal LATÊNCIA. Os círculos preenchidos representam as médias gerais das amplitudes dos potenciais dos piscamentos nas LATÊNCIAS -1800, -500 e 0 ms precedendo o início do potencial de piscamento (representados no eixo horizontal). As amplitudes são medidas no eixo vertical (y). As barras verticais representam os erros padrões.

A tabela 3 mostra a análise Post hoc (Neuman- Keuls) do efeito principal TEMPO.

Tabela 3: Análise post hoc (teste de Newman-Keuls) do efeito principal TEMPO.

TEMPO (m)	P
-1800 * 0	0.0046
-1800 * -500	0.0244
-500 * 0	0.2330

As amplitudes nos tempos -500ms (início do componente tardio) e 0ms (final do BP) foram significativamente maiores que as amplitudes no tempo -1800ms (estimativa do ruído, medida logo antes do início do componente precoce do BP). Este resultado é consistente com a presença de um BP precedendo o piscamento voluntário nos pacientes com DP. As amplitudes nas latências -500 e 0ms não diferiram significativamente.

Comparação entre o BP nos pacientes com DP e nos controles

A figura 4 mostra a promediação do EEG registrado em 11 eletrodos (F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4, O1 e O2) dos pacientes com DP nas fases *off* e *on* promediadas (linha contínua) e dos controles normais (linha tracejada).

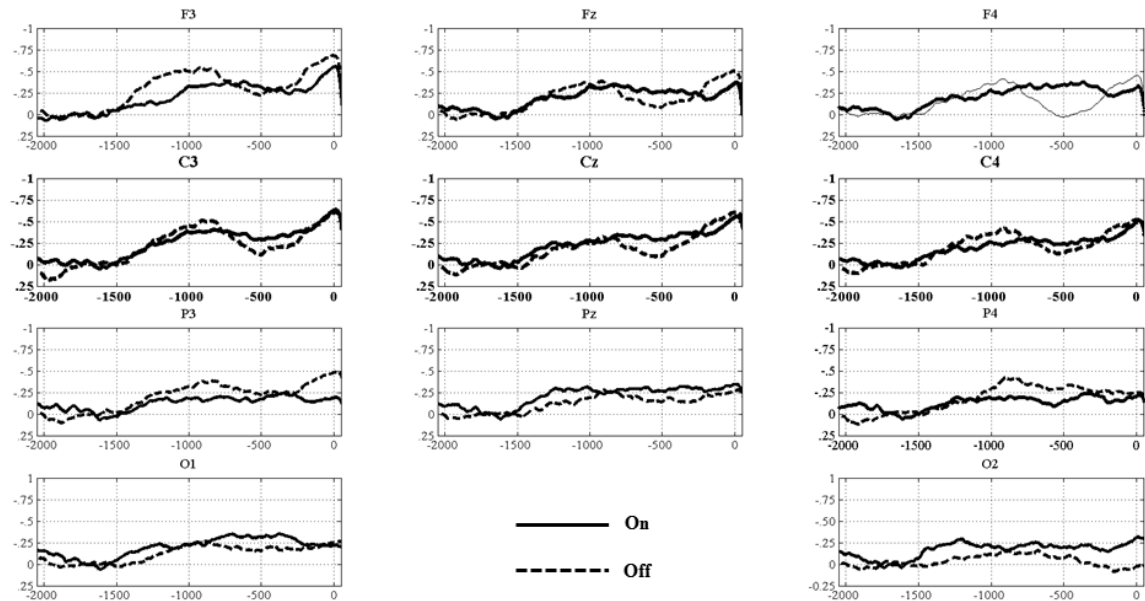


Figura 4: Promediação do EEG registrado em 11 eletrodos (F3, Fz, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4, O1 e O2) no período de 2 segundos precedendo o piscamento voluntário dos pacientes com DP em fase *off* e *on* promediadas (linha contínua) e nos controles normais (linha tracejada). No eixo das abscissas está representado o tempo em milissegundos (ms) em relação ao início do potencial de piscamento (tempo zero). No eixo das ordenadas estão representadas as amplitudes em microvolts (μV).

A figura 5 mostra os gráficos das medidas obtidas nos eletrodos C3, Cz e C4 e a tabela 4 mostra a análise variância destes dados.

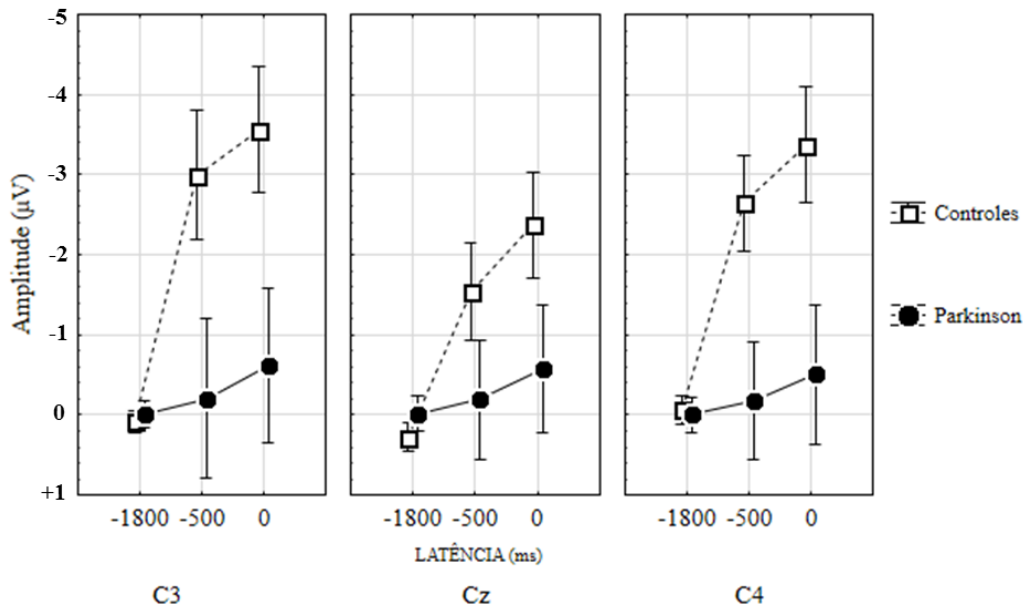


Figura 5: Médias das amplitudes (em μV) dos potenciais promediados nas CONDIÇÕES pacientes com DP em fase *off* e *on* promediadas (círculos preenchidos) e controles normais (quadrados vasados) nas LATÊNCIAS zero, -500 e 1800 ms precedendo o início do potencial de piscamento e nos ELETRODOS C3 (esquerda), Cz (centro) e C4 (direita). As barras verticais representam os erros padrões.

Tabela 4: Análise de variância das amplitudes do BP. Modelo misto com dois grupos (DP e controle) e duas medições repetidas: LATÊNCIA (-1800, -500 e 0 ms em relação ao início do potencial de piscamento) e ELETRODO (C3, Cz e C4).

	SS	Df	MS	F	p
Intercept	227.7699	1	227.7699	10.379	0.0038
GROUP	128.6868	1	128.6868	5.8643	0.0237
Error	504.7156	23	21.9442		
LATÊNCIA	134.3494	2	67.1747	7.8470	0.0012
<i>LATÊNCIA * GRUPO</i>	<i>74.4753</i>	<i>2</i>	<i>37.2377</i>	<i>4.3499</i>	<i>0.0186</i>
<i>Error</i>	<i>393.7853</i>	<i>46</i>	<i>8.5605</i>		
ELETRODO	9.3940	2	4.6970	2.2964	0.1120
ELETRODO*GRUPO	9.7313	2	4.8656	2.3788	0.1040
Error	94.0871	46	2.0454		
LATÊNCIA*ELETRODO	2.8596	4	0.7149	1.2438	0.2977
LATÊNCIA*ELETRODO*GRUPO	2.6646	4	0.6661	1.1590	0.3341
Error	52.8779	92	0.5748		

SS: sum of squares (soma dos quadrados); DF: degrees of freedom (grau de liberdade); MS: mean square (soma dos quadrados); F: fatorial; P: probabilidade.

Houve uma interação significativa entre LATÊNCIA e GRUPO. A tabela 5 mostra a análise Post hoc (Neuman- Keuls) desta interação.

Tabela 5: Análise post hoc (teste de Newman-Keuls) da interação LATÊNCIA * GRUPO.

CONDIÇÃO (tipo de piscamento) * LATÊNCIA (ms)	p
Parkinson em -1800ms *Controle em -1800ms	0.9018
Parkinson em -500ms *Controle em -500ms	0.0328
Parkinson em 0ms *Controle em 0ms	0.0117

As amplitudes em -500ms e 0ms foram significativamente menores no grupo com DP que no grupo controle. Isto indica que os BP dos pacientes com DP têm amplitudes significativamente menores que os BP dos controles. As amplitudes em -1800ms (estimativa do ruído) não foram significativamente diferentes.

Discussão

Este trabalho demonstrou que existe um BP antes do piscamento voluntário em pacientes com DP. Estes BPs não diferem nas fases *Off* e *On* da medicação. Os BPs têm amplitudes significativamente menores que os obtidos em controles, não havendo diferenças significativas entre as amplitudes do componente precoce e tardio. Ao nosso conhecimento não existem estudos sobre BP precedendo o piscamento em pacientes parkinsonianos. Até o momento, conhecemos apenas um artigo que relatou a presença de BP precedendo o piscamento (BERARDELLI et al. 1985).

A amostra investigada apresentou diferenças de faixa etária entre pacientes (média de 58 anos) e controles (média de 35 anos), porém foi demonstrado previamente que não há alteração do BP com o aumento da idade (SINGH et al., 1990). Dessa forma, acreditamos que o fator idade não influencia a interpretação dos achados. Dentre os pacientes avaliados, a maior parte dos sujeitos apresenta estágio H&Y grau um e UPDRS com queixas em sua maioria leve nas provas motoras e de atividades de vida diária. Apesar de a doença ter um comprometimento sintomatológico progressivo, sabe-se que os danos às vias neuronais se iniciam oito a dezessete anos antes do surgimento dos primeiros sintomas, apresentando distintas características de progressão a depender dos mecanismos compensatórios e da idade de início (KURAMOTO et al. 2013). Sendo assim, mesmo os indivíduos precocemente diagnosticados já apresentam intensos danos às vias neuronais.

Os BPs dos piscamentos voluntários no *Off* e no *On* apresentaram ampla distribuição no escalpe mais evidentes nos eletrodos centrais semelhantes ao descritos precedendo outros movimentos em sujeitos normais e com DP (SHIBASAKI, SHIMA, KUROIWA, 1978; SHIMIZU, OKIYAMA, 1993; JAHANSHAH et al., 1995; PRAAMSTRA et al., 1996; IKEDA et al., 1997). Não se observou a tendência de aumento das amplitudes deste potencial em C3 e C4 em relação à Cz visualizada nos nossos controles e em estudos com movimentos sacádicos descritos por YAMAMOTO et al. (2004). Esta tendência também não foi visualizada em BP precedendo movimentos sacádicos relatados por SHIMIZU e OKIYAMA (1993). A explicação para uma possível tendência a lateralização deste potencial, nestas circunstâncias, seria a influência do córtex visual frontal sobre o planejamento motor, porém estas afirmações necessitam de maior investigação.

A média das amplitudes, no pico de maior negatividade do BP que precedeu o piscamento voluntário, no grupo da DP (0.6 μ V) foi significativamente inferior a média do BP precedendo o mesmo movimento no grupo de sujeitos saudáveis (3.3 μ V), apesar de todos os

doentes estarem em estágio sintomatológico leve. Este achado é consistente com descrições prévias de reduzida amplitude do potencial pré-motor na DP durante a realização de outros movimentos, mesmo estágios iniciais (SHIBASAKI, SHIMA, KUROIWA, 1978; SIMPSON, KHURAIKET, 1987; DICK et al., 1989; OISHI et al., 1995; JAHANSHAH et al., 1995; CUNNINGTON et al., 1997; FILIPOVIC et al., 2001; FUMURO et al., 2013). Além disso, estes achados estão em acordo com o fato de as vias relacionadas ao planejamento motor serem precocemente acometidas na DP (KURAMOTO et al., 2013) e com as alterações clínicas na mímica facial e na redução da frequência de piscamento já no momento do diagnóstico da doença (KOROSIC et al., 2006).

Ausência de anormalidade na amplitude no BP da DP comparada ao grupo controle tem sido descrita (TOUGE et al., 1995; PRAAMSTRA et al., 1996B; FILIPOVIC et al., 2001) e poucos estudos revelaram aumento da amplitude do BP precoce na DP comparado aos controles (FATTAPPOSTA et al., 2000 e 2002).

A literatura é controversa a cerca das latências do BP na DP em relação a sujeitos saudáveis. Em nossos dados a latência do BP precoce situou-se em torno de -1500ms, enquanto que o dos controles iniciou-se em torno de -1700ms. Estes achados estão em acordo com o início tardio do BP na DP descrito por SIMPSON, KHURAIKET (1987) durante flexão dos dedos, embora o início mais precoce deste potencial durante movimento do terceiro quirodáctilo (SHIBASAKI, SHIMA, KUROIWA, 1978) e no movimento do polegar (OISHI et al., 1995) ou ausência de alteração deste parâmetro durante sácades oculares (SHIMIZU, OKIYAMA, 1993) e na extensão do dedo indicador (JAHANSHAH et al., 1995) sejam relatadas na DP quando comparadas ao grupo controle.

Em nosso estudo a droga dopaminérgica não afetou o BP. O aumento da amplitude na fase *On* tem sido descrito em BP precedendo movimento dos dedos (SIMPSON, KHURAIKET, 1987; DICK et al., 1987; OISHI et al., 1995). A ausência da influência da levodopa sobre o BP precedendo o piscamento ocular pode decorrer do acometimento precoce e severo das vias dopaminérgicas envolvidas no planejamento deste ato motor.

Apesar de a levodopa ser considerada droga padrão ouro no tratamento da DP, ela parece não atuar em todos os mecanismos geradores da bradicinesia (ESPAY et al., 2011). Vias não-dopaminérgicas exercem influências sobre a melhora clínica no planejamento motor e na amplitude do BP na DP, conforme observado após palidotomia posteroventral unilateral (LIMOUSIN et al., 1999; GIRONELL et al., 2002) e após técnicas de neuro-feedback (FUMURO et al., 2013). Estes trabalhos corroboram com a presença e importância de vias

não dopaminérgicas ou dopa resistentes nos mecanismos moduladores do planejamento motor na DP (DECAMP, SCHNEIDER, 2006; ALMEIDA, BROWN, 2013).

Em suma este é o primeiro relato do BP precedendo o piscamento palpebral de parkinsonianos. Nossos resultados mostram evidentes alterações na amplitude do BP já em estágios precoces da doença. Possivelmente estes potenciais possam ser usados futuramente como marcadores diagnósticos precoces e evolutivos da DP, para isso novos estudos devem ser realizados. A levodopa, atualmente considerada a droga *gold standard* na DP, não modificou o BP precedendo o piscamento mesmo em estágios iniciais da doença, sugerindo que vias acessórias não dopaminérgicas ou dopa resistentes relacionadas ao planejamento motor merecem ser investigadas na busca de terapêutica medicamentosa e reabilitação mais eficaz.

7.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O *Bereitschaftspotential* foi identificado precedendo o piscamento papebral voluntário dos controles com ampla distribuição no escalpe mais evidente nos eletrodos centrais, mas não foi visualizado precedendo o piscamento espontâneo. Este potencial apresentou amplitude inferior e latências semelhantes às descritas previamente precedendo outros tipos de movimento.

Na Doença de Parkinson o *Bereitschaftspotential* foi amplamente visualizado no escalpe, também mais evidente nos eletrodos centrais, precedendo o piscamento papebral voluntário, porém sua amplitude é significativamente reduzida quando comparada aos controles. Houve tendência a encurtamento da duração deste potencial em relação aos sujeitos saudáveis.

Durante a avaliação da influência da levodopa sobre o *Bereitschaftspotential* relacionado ao piscamento ocular, não se observou qualquer modificação nos parâmetros avaliados (amplitudes, latências e eletrodo).

Apesar de os pacientes analisados estarem em sua maioria em estágio leve da classificação de Hoehn & Yahr, a redução da amplitude deste potencial foi significativamente inferior a dos controles e os mecanismos de compensação do planejamento motor, avaliados pelo BP, se mostraram dopa resistentes ou mediados por vias não dopaminérgicas.

Acreditamos que o *Bereitschaftspotential* do piscamento papebral voluntário possa atuar como possível marcador diagnóstico e até mesmo prognóstico precoce desta enfermidade, além de poder ser útil como marcador evolutivo. Nossos achados ainda revelam a importância de novas pesquisas relacionadas às vias não dopaminérgicas ou dopa resistentes relacionadas ao planejamento do ato motor na Doença de Parkinson, a fim de aprimorar a terapêutica medicamentosa e as terapias de reabilitação.

8.0 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS:

Este estudo expressa o interesse em preencher algumas lacunas existentes na compreensão da fisiologia da Doença de Parkinson e no aprimoramento de suas possibilidades terapêuticas por meio do *Bereitschaftspotential*. Temos interesse em ampliar o estudo com o piscamento ocular a fim de normatizar as técnicas e estabelecer valores de referências para uso não apenas experimental, mas também clínico com caráter diagnóstico e até mesmo prognóstico em enfermidades que afetem as vias centrais relacionadas a este ato motor.

É interessante, ainda, realizar a análise de geradores dos potenciais obtidos para melhor estudar as estruturas cerebrais responsáveis pela produção destes potenciais.

Por fim esperamos que nossos achados sejam de grande valia nas investigações futuras relacionadas ao *Bereitschaftspotential* e a Doença de Parkinson.

REFERÊNCIAS

1. AGOSTINO, R. et al. Voluntary, spontaneous, and reflex blinking in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, v. 23, n. 5, 2008.
2. AHLSSKOG, E.J. Does vigorous exercise have a neuroprotective effect in Parkinson disease? *Neurology*, v. 77, p. 288-294, 2011.
3. ALMEIDA, Q.J.; BROWN, M.J.N. Is DOPA-responsive hypokinesia responsible for bimanual coordination deficits in Parkinson's disease? *Front. Neurol.*, v.4, art. 89, 19 July 2013. doi: 10.3389/fneur.2013.00089.
4. ASTON-JONE, G.; COHEN, J.D. An integrative theory of locus coeruleus - norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu. Rev. Neurosci.*, v. 28, p. 403-50, 2005.
5. BABA, Y. et al. Readiness potentials recorded from the scalp and depth leads. *Appl Neurophysiology*, v. 39, n. 3-4, p. 268-71, 1977.
6. BAEHR, M.; FROTSCHER, M. Cerebelo. In *Duus diagnóstico topográfico em neurologia*. 4ed. Capítulo 5. Editora Guanabara Koogan S.A, p. 231-249, 2008.
7. BARBOSA M.T. et al. Parkinsonism and Parkinson's disease in the elderly: a community-based survey in brazil (the Bambuí study). *Movement Disorders*, v. 21, n.6, p.800-808, 2006.
8. BARRET, G.; SHIBASAKI, H.; NESHIGE, R. Cortical potentials preceding voluntary movement: Evidence for three periods of preparation in man. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, v. 63, Issue 4, p. 327-339, 1986a.
9. BARRET, G.; SHIBASAKI, H.; NESHIGE, R. Cortical potentials shifts preceding voluntary movement are normal in parkinsonism. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, v. 63, Issue 4, p. 340-348, 1986b.
10. BENJAMIN C.L.; JOSEPH K.C. Epidemiology of Parkinson's disease. Issue: *BC Medical Journal*, v. 43, n. 3, p. 133-137, 2001.

11. BENTIVOGLIO, A.R. et al. Analysis of blink rate patterns in normal subjects. *Movement Disorders*, v.12, n. 6, p. 1028-34, 1997.
12. BERARDELLI, A. et al. Pathophysiology of blepharospasm and oromandibular dystonia. *Brain*, v. 108 (Pt 3), p.593-608, 1985.
13. BERARDELLI, A. et al. Cortical inhibition in Parkinson's disease. a study with paired magnetic stimulation. *Brain*, v.119, p.71-77, 1996.
14. BERARDELLI, A. et al. Pathophysiology of bradykinesia in Parkinson's disease. Review Article. *Brain*, v.124, n. 11, p. 2131-2146, 2001.
15. BOHLHALTER, S. KÄGI, G. Parkinsonism: heterogeneity of a common neurological syndrome. *Swiss Med Wkly.*, v. 141: w13293, 2011.doi: 10.4414/smw.2011.13293.
16. BOHNEN, N.I. et al. Advances in therapeutic options for gait and balance in parkinson's disease. *US Neurol.*, v. 7, n. 2, p. 100-108, 2011.
17. BOLOGNA, M. et al. Voluntary, spontaneous and reflex blinking in patients with clinically probable progressive supranuclear palsy. *Brain*, v. 132, p. 502-510, 2009.
18. BOLOGNA, M. et al. Effects of subthalamic nucleus deep brain stimulation and l-dopa on blinking in Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, v. 235, n. 1, p.265-72, 2012.
19. BOSTANTJOPOULOU, S. et al. Evaluation of non-motor symptoms in Parkinson's disease: An underestimated necessity. *Hippokratia*, v.17, n. 3, p. 214-219, 2013.
20. BRACHA, V. et al. The cerebellum and eyeblink conditioning: learning vs. network performance hypotheses. *Neuroscience*, v. 162, n.3: 787, 2009. doi:10.1016/j.neuroscience.2008.12.042.
21. BRITTAIN, J.S. et al. A role for the subthalamic nucleus in response inhibition during conflict. *Behavioral/Systems/Cognitive. The Journal of Neuroscience*, v. 32, n. 39, p.13396 -13401, 2012.
22. BROCKS, D.R. Anticholinergic drugs used in Parkinson's disease: An overlooked class of drugs from a pharmacokinetic perspective. *J Pharm Pharmaceut Sci.*, v.2, n. 2, p. 39-46, 1999.

23. BROWN, R.G. et al. Impact of deep brain stimulation on upper limb akinesia in Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, v. 45. 4. ed., p. 473-488, 1999.
24. BRUSA, L. et al. The effect of dopamine agonists on cognitive functions in non-demented early-mild Parkinson's disease patients. *Funct Neurol.*, v. 28, n. 1, p. 13-18, 2013. Published online 2013 June 3. PMID: PMC3812723.
25. CARRILLO-DE-LA-PEÑA, M.T.; GALDO-ALVAREZ, S.; LASTRA-BARREIRA, C. Equivalent is not equal: primary motor cortex (MI) activation during motor imagery and execution of sequential movements. *Brain Research*, v. 1226, p. 134-43, 2008.
26. CAVINESS, J. N.; EVIDENTE, V.G.H.; JOSHI, N. An investigation on the reproducibility of the Bereitschaftspotential. *Neurology*, v. 50, n. 4, Supplement 4, p. A224-A225, 1998.
27. CHAN, K.K.S. et al. A Three-year prospective study of spontaneous eye-blink rate in first-episode Schizophrenia: Relationship with relapse and neurocognitive function. *East Asian Arch Psychiatry*, v. 20, p.174-9, 2010.
28. CHU, J. et al. Impaired presynaptic inhibition in the motor cortex in Parkinson disease. *Neurology*, v. 7, p. 842-849, 2009.
29. COLEBATCH, J.G. Bereitschaftspotential and movement-related potentials: origin, significance, and application in disorders of human movement. *Movement Disorders*, v. 22, n. 5, p. 601-610, 2007.
30. COLZATO, L.S. et al. Blinks of the eye predict blinks of the mind. *Neuropsychologia*, v. 46, p. 3179-3183, 2008a.
31. COLZATO, L.S. et al. Reduced Spontaneous Eye Blink Rates in Recreational Cocaine Users: Evidence for dopaminergic hypoactivity. *PLoS ONE*, v. 3, n. 10, e3461, 2008b. doi:10.1371/journal.pone.0003461.
32. CRUZ, A.A. et al. Spontaneous eyeblink activity. *The ocular surface*, v. 9, n. 1, p. 29-41, 2011.

33. CUI, R.Q.; DEECKE, L. High resolution DC-EEG analysis of the Bereitschaftspotential and post movement onset potentials accompanying uni or bilateral voluntary finger movements. *Brain Topography*, v. 11, n. 3, p. 233-249, 1999.
34. CUI, R.Q. et al. Neuroimage of voluntary movement: topography of the Bereitschaftspotential, a 64-channel DC current source density study. *NeuroImage*, v.9, p.124-134, 1999.
35. CUNNINGTON, R. et al. Movement-related potentials in Parkinson's disease. Presence and predictability of temporal and spatial cues. *Brain*, v. 118, n. 4, p. 935-950, 1995.
36. CUNNINGTON, R. et al. Movement-related potentials in Parkinson's disease. Motor imagery and movement preparation. *Brain*, v.120, p.1339-1353, 1997.
37. CUNNINGTON, R.; IANSEK, R.; BRADSHAW, J.L. Movement-related potentials in Parkinson's disease: external cues and attentional strategies. *Movement Disorders*, v. 14, n. 1, p. 63-68, 1999.
38. CUNNINGTON, R. et al. A medial to lateral shift in pre-movement cortical activity in hemi-Parkinson's disease. *Clinical Neurophysiology*, v. 112, p. 608-618, 2001.
39. DAGDA, R.K.; BANERJEE, T.; JANDA, E. How Parkinsonian Toxins Dysregulate the Autophagy Machinery. *Int J Mol Sci.*, v. 14, n. 11, p. 22163-22189, 2013.
40. DECAMP, E.; SCHNEIDER, J.S. Effects of nicotinic therapies on attention and executive functions in chronic low-dose MPTP-treated monkeys. *European Journal of Neuroscience*, v. 24, p. 2098-2104, 2006.
41. DEECKE, L.; GROEZINGER, B.; KORNHUBER, H.H. Voluntary finger movement in man: cerebral potentials and theory. *Biological Cybernetics*, v. 23, n. 2, p. 99-119, 1976.
42. DEECKE, L.; KORNHUBER, H.H. An electrical sign of participation of the mesial supplementary motor cortex in human voluntary finger movement. *Brain Research*, v. 159, Issue 2, p. 473-476, 1978.
43. DEECKE, L. Bereitschaftspotential as an indicator of movement preparation in supplementary motor area and motor cortex. [Review] *Ciba Found Symp*, v. 132, p. 231-50, 1987.

44. DEECKE, L. et al. Experiments in movement using DC-EEG, MEG, SPECT and FMRI. (Proceedings of the International Symposium on Brain Mapping Oiso/Japan 13-15 Sept 1996) In: Current progress in functional brain mapping - Science and Applications. London. Smith-Gordon & Co Lt., p. 53-60, 1998.
45. DEFEBVRE L., et al. Spatiotemporal study of Bereitschaftspotential and event-related desynchronization during voluntary movement in Parkinson's disease. Brain Topography, v. 6, n. 3, p. 237-44, 1994.
46. DELFINO, et al. Bereitschaftspotential (BP) in Parkinson's disease (PD) patients pre- and post - posteroventral pallidotomy (PVP). Neurology, v. 52, n. 6 Supplement 2, p. A170, 1999.
47. DELGADO-GARCÍA, J.M.; GRUART, A.; MÚNERA, A. Neural organization of eyelid responses. Movement Disorders, v. 17, Suppl. 2, p. S33-S36, 2002.
48. DELGADO-GARCÍA, J.M.; GRUART, A.; TRIGO, J.A. Physiology of the eyelid motor system. Ann. N.Y. Acad. Sci.1004, p. 1-9, 2003.
49. DEUSCH, G.; GODDEMEIER, C. Spontaneous and reflex activity of facial muscles in dystonia, Parkinson's disease, and in normal subjects. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, v. 64, p. 320-324, 1998.
50. DICK, J.P. et al. The cortico motoneurone connection is normal in Parkinson's disease. Nature, v. 310 (5976), p. 407-9, 1984.
51. DICK, J.P. et al. The Bereitschaftspotential, L-DOPA and Parkinson's disease. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, v. 66, 3. ed., p. 263-274, 1987.
52. DICK, J.P. et al. The Bereitschaftspotential is abnormal in Parkinson's disease. Brain, v. 112, p. 233-244, 1989.
53. EL-TALLAWY, H.N. at al. Prevalence of Parkinson's disease and other types of Parkinsonism in Al Kharga district, Egypt. Neuropsychiatric Disease and Treatment, v. 9, p. 1821-1826, 2013.

54. ENA, S.; D'EXAERDE, A.K.; SCHIFFMANN, S.N. Unraveling the differential functions and regulation of striatal neuron sub-populations in motor control, reward, and motivational processes. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 5, Article 47, 2011. doi: 10.3389/fnbeh.2011.00047.
55. ESPAY, A.J. et al. Differential response of speed, amplitude, and rhythm to dopaminergic medications in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, v. 26, n. 14, p. 2504-2508, 2011.
56. FATTAPPOSTA, F. et al. Preprogramming and control activity of bimanual self-paced motor task in Parkinson's disease. *Clinical Neurophysiology*, v. 111, p. 873-883, 2000.
57. FATTAPPOSTA, F. et al. L-dopa effects on preprogramming and control activity in a skilled motor act in Parkinson's disease. *Clinical Neurophysiology*, v. 113, n. 2, p. 243-53, 2002.
58. FERNANDEZ, H.H. Updates in the medical management of Parkinson disease. *Cleveland clinic journal of medicine*, v. 79, n. 1, 2012.
59. FILIPOVIĆ, S.R. et al. Bereitschaftspotential in depressed and non-depressed patients with Parkinson's disease. *Brief Report.Movement Disorder*, v. 16, n. 2, p. 294-300, 2001.
60. FILIPOVIĆ, S.R. et al. Correlation between Bereitschaftspotential and reaction time measurements in patients with Parkinson's disease. *Measuring the impaired supplementary motor area function? J Neurol Sci.*, v. 147, n. 2, p. 177-83, 1997.
61. FUMURO, T. et al. Bereitschaftspotential augmentation by neuro-feedback training in Parkinson's disease. *Clinical Neurophysiology*, v. 124, p. 1398-1405, 2013.
62. GALGANO, J.; FROUD, K. Evidence of the voice-related cortical potential: An electroencephalographic study. *NeuroImage*, v. 41, p. 1313-1323, 2008.
63. GARCÍA-RAMOS, R. et al. Informe de la fundación del cerebro sobre el impacto social de la enfermedad de Parkinson en Espana. *Neurología*, 2013. doi:10.1016/j.nrl.2013.04.008.
64. GASPARINI, F.; DI PAOLO, T.; GOMEZ-MANCILLA, B. Metabotropic Glutamate Receptors for Parkinson's Disease Therapy. *Parkinson's Disease*, ID 196028, 11 pages, 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/196028>.

65. GIRONELL, A. et al. Motor circuitry re-organization after pallidotomy in Parkinson disease: a neurophysiological study of the Bereitschaftspotential, contingent negative variation, and N30. *Clinical Neurophysiology*, v.19, n. 6, p. 553-61, 2002.
66. GERSCHLAGER, W. et al. Bilateral subthalamic nucleus stimulation improves frontal cortex function in Parkinson's disease. An electrophysiological study of the contingent negative variation. *Brain*, v.122, p. 2365-2373, 1999.
67. GRAFTON, S.T. et al. Pallidotomy increases activity of motor association cortex in Parkinson disease: A positron emission tomographic study. *Annals of neurology*, v.37, n. 6, p. 776-783, 1995.
68. GROGER, A. Dopamine reduction in the substantia nigra of Parkinson's disease patients confirmed by in vivo magnetic resonance spectroscopic imaging. *PLoS ONE*, v. 9, n. 1, e84081, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0084081.
69. HARATI, A.;MÜLLER, T. Neuropsychological effects of deep brain stimulation for Parkinson's disease. *Surg Neurol Int.*, v. 4 (Suppl 6), p. S443-S447, 2013.
70. HASLINGER, B. et al. Event-related functional magnetic resonance imaging in Parkinson's disease before and after levodopa. *Brain*, v.124, n.3, p.558-570, 2001.
71. HOMMEL, B. et al. How the brain blinks: towards a neurocognitive model of the attentional blink. *Psychological Research*, v. 70, p. 425-435, 2006.
72. HONG, S. Dopamine system: manager of neural pathways. *Front. Hum. Neurosci.* 09 December 2013 | doi: 10.3389/fnhum.2013.00854.
73. HUGHES, J. et al. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, v. 55, n. 3, p. 181-4, 1992.
74. ISAACSON, S.H.; HAUSER, R.A. Improving symptom control in early Parkinson's disease. *Ther Adv Neurol Disord.*, v. 2, n. 6, p. 29-41, 2009.

75. IKEDAAT, A. et al. Dissociation between contingent negative variation (CNV) and Bereitschaftspotential (BP) in patients with parkinsonism. *Electroencephalography and clinical Neurophysiology*, v. 102, p. 142-151, 1997.
76. JADAD, A.R. et al. Assessing the Quality of Reports of Randomized Clinical Trials: Is Blinding Necessary? *Controlled Clinical Trials*, v. 17, p. 1-12, 1996.
77. JAHANSHAHI, M. et al. Self-initiated versus externally triggered movements. An investigation using measurement of regional cerebral blood flow with PET and movement-related potentials in normal and Parkinson's disease subjects. *Brain*, v.118, n. 4, p. 913-933, 1995.
78. KAMINER, J. et al. Characterizing the spontaneous blink generator: an animal model. *J Neurosci.*, v. 31, n. 31, p. 11256-11267, 2011.
79. JANEZIC, S. et al. Deficits in dopaminergic transmission precede neuron loss and dysfunction in a new Parkinson model. *PNAS*, Published online September 30, 2013, E4016-E4025.
80. KARLSBORG, M. et al. Duodopa pump treatment in patients with advanced Parkinson's disease. *Dan med bul*, v. 57, n. 6, A4155, 2010.
81. KATO, M.; MIYAUCHI, S. Functional MRI of brain activation evoked by intentional eye blinking. *NeuroImage*, v. 18, n. 3, p.749-59, 2003.
82. KLEINE, B.U. et al. Impaired motor cortical inhibition in Parkinson's disease: motor unit responses to transcranial magnetic stimulation. *Exp Brain Res.*, v. 138, n.4, p. 477-83, 2001.
83. KOLLER, W.C. Levodopa in the treatment of Parkinson's disease. *Neurology*, v. 55, n. 11, Suppl 4, p. S2-7; discussion S8-12, 2000.
84. KONTA, B.; FRANK, W. The treatment of Parkinson's disease with dopamine agonists. *GMS Health Technol Assess*, v. 4, Doc05, 2008. Published online 2008 June 18. PMID: PMC3011299.

85. KORNHUBER, H.H.; DEECKE, L. Hirnpotentialänderungen beim Menschen vor und nach Willkurbewegungen, dargestellt mit Magnetband-Speicherung und Rückwärtsanalyse. *Pflügers Arch.* 281:52. 1964. In SHIBASAKI, H.; HALLET, M. What is the Bereitschaftspotential? *Clinical Neurophysiology*, v. 117, n.11, p. 2341-2356, 2006.
86. KOROSEC, M. et al. Eyelid movements during blinking in patients with Parkinson's disease. *Movement Disorders*, v. 21, n. 8, 2006.
87. KRANCZIOCH, C. et al. Task complexity differentially affects executed and imagined movement preparation: evidence from movement-related potentials. *PLoS One*, v. 5, n. 2, e9284, 2010.
88. KRISTEVA-FEIGE, R. et al. The Bereitschaftspotential paradigm in investigating voluntary movement organization in humans using magnetoencephalography (MEG). *Brain Research Protocols*, v. 1, p. 13-22, 1997.
89. KRYLOV, N. Possible mechanisms of delay in initiation of voluntary movements. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, v. 28, issue 4, p. 402-408, 1998.
90. KUOPPAMAKI, M. et al. Parkinsonism following bilateral lesions of the globus pallidus: performance on a variety of motor tasks shows similarities with Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, v.76, p. 482-490, 2005.
91. KURAMOTO, L. et al. The nature of progression in Parkinson's disease: An application of non-linear, multivariate, longitudinal random effects modelling. *PLoS ONE*, v. 8, n.10, e76595, 2013. doi:10.1371/journal.pone.0076595.
92. LADAS, A. et al. Eye Blink Rate as a biological marker of Mild Cognitive Impairment, *International Journal of Psychophysiology*. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2013.07.010>.
93. LEE, B.I. et al. Cortical potentials related to voluntary and passive finger movements recorded from subdural electrodes in humans. *Annals of Neurology*, v. 20, n.1, p.32-37, 1986.
94. LIBET, B.; WRIGHT J.E.W.; GLEASON, C.A. Readiness-potentials preceding unrestricted spontaneous vs. pre-planned voluntary acts. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, v. 5, Issue3, p. 322-335, 1982.

95. LIM, V.K et al. Kinesthetic but not visual imagery assists in normalizing the CNV in Parkinson's disease. *Clinical Neurophysiology*, v. 117, p. 2308-2314, 2006.
96. LIMOUSIN, P. et al. The effects of posteroventral pallidotomy on the preparation and execution of voluntary hand and arm movements in Parkinson's disease. *Brain*, v. 122, v.2, p.315-327, 1999.
97. LINDAHL, M. et al. Signal enhancement in the output stage of the basal ganglia by synaptic short-term plasticity in the direct, indirect, and hyperdirect pathways. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 19 June 2013 | doi: 10.3389/fncom.2013.00076.
98. LINS, O.G. et al. Ocular artifacts in EEG and event-related potentials. Iscalp topography. *Brain Topography*, v.6, p. 51-63, 1993a.
99. LINS, O.G. et al. Ocular artifacts in EEG and event-related potentials. Iscalp topography. *Brain Topography*, v.6, p. 65-78, 1993b.
100. LOW, K.A.; MILLER, J.; VIERCK, E. Response slowing in Parkinson's disease. A psychophysiological analysis of premotor and motor processes. *Brain*, v.125, p. 1980-1994, 2002.
101. LUKHANINA, E. P. et al. Two phases of the contingent negative variation in humans: association with motor and mental functions. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, v. 36, n. 4, p. 359-65, 2006.
102. MABTRILA, R. J.; RINNE, U. K. Epidemiology of Parkinson's disease in Finland. *Acta Neurologica Scandinavica*, v. 53, p. 81-102, 1976.
103. MALKANI, R. et al. Amantadine for freezing of gait in patients with Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol.*, v. 35, n. 6, p. 266-268, 2012.
104. MANDAL, A. et al. Drug safety monitoring in patients of movement disorders of a tertiary care hospital. *Indian J Pharmacol.*, v. 42, n.4, p. 249-251, 2010.
105. MANGANELLI, F. et al. Functional involvement of central cholinergic circuits and visual hallucinations in Parkinson's disease. *Brain*, v.132, p. 2350-2355, 2009.

106. MANSSANO, J. Doença de Parkinson actualização clinica. *Acta Med Port.*, v.24 (S4), p. 827-834, 2011.
107. MARTINEZ-MARTIN P. Instruments for holistic assessment of Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission*, v. 120, n. 4, p. 559-64, 2013.
108. MARTÍNEZ-MARTÍN, P.; HERNÁNDEZ, B.; RICART, J. Factores determinantes del inicio de tratamiento con levodopa/carbidopa/entacapona en pacientes españoles con enfermedad de Parkinson. *Neurología*, 2013. doi:10.1016/j.nrl.2012.12.008.
109. McARDLE, J.J. et al. Electrophysiological evidence of functional integration between the language and motor systems in the brain: A study of the speech Bereitschaftspotential. *Clinical Neurophysiology*, v. 120, p. 275-284, 2009.
110. MÉNDEZ-HERRERA, C.R. El núcleo subtalámico en la fisiopatología de la enfermedad de Parkinson y su rol como diana quirúrgica The subthalamic nucleus in the pathophysiology of Parkinson's disease and its role as a surgical target. Artículo de revisión. *Revista Chilena de Neuro-Psiquiatría*, v. 49, n. 1, p. 62-68, 2011.
111. MORALES-BRICENO, H. et al. Overweight is more prevalent in patients with Parkinson's disease. *Arq Neuropsiquiatr.*, v.70, n.11, p. 843-856, 2012.
112. MOREAU, C. et al. Memantine for axial signs in Parkinson's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, v. 84, p. 552-555, 2013.
113. MÜLLER, T. Drug therapy in patients with Parkinson's disease. *Translational Neurodegeneration* 2012, 1:10.
114. NEEDHAM, E.; WORTH, P. Parkinson's disease: a guide to pharmacological management. Drug review Parkinson's disease. *Prescriber*, v. 5, p.21-31, 2012. Acesso em junho, 2012: www.prescriber.co.uk.
115. NESHIGE, R. et al. Recording of movement-related potentials from the human cortex. *Annals of Neurology*, v. 24, n. 3, p. 439-445, 1988.
116. NI, Z. et al. Increased motor cortical facilitation and decreased inhibition in Parkinson disease. *Neurology*, v. 80, n. 19, p. 1746-53, 2013, doi: 10.1212/WNL.0b013e3182919029.

117. NIELSEN, S.S. et al. Environmental tobacco smoke and Parkinson disease. *Movement Disorders*, v. 27, n. 2, p. 293-297, 2012.
118. NIEUWENHUIS, S. et al. The Role of the Locus Coeruleus in Mediating the Attentional Blink: A Neurocomputational Theory. *Journal of Experimental Psychology: General*, v. 134, n. 3, p. 291-307, 2005.
119. OH, J.; JEONG, S.Y.; JEONG, J. The timing and temporal patterns of eye blinking are dynamically modulated by attention. *Human Movement Science*, v. 31, p. 1353-1365, 2012.
120. OISHI, M. et al. Contingent negative variation and movement-related cortical potentials in parkinsonism. *Electroencephalography and clinical Neurophysiology*, v. 95, 346-349, 1995.
121. PADOVA, V. et al. Diurnal variation of spontaneous eye blink rate in the elderly and its relationships with sleepiness and arousal. *Neuroscience Letters*, v. 463, p. 40-43, 2009.
122. PAGONABARRAGA, J.; RODRÍGUEZ-OROZ, M.C. Rasagilina en monoterapia em pacientes en fases tempranas de la enfermedad de Parkinson y em terapia combinada y coadyuvante a levodopa en fases moderada y avanzada. *Rev Neurol.*, v. 56, p. 25-34, 2013.
123. PAL, G.; GOETZ, C.G. Assessing bradykinesia in Parkinsonian disorders. *Frontiers in Neurology*, v. 4, Article 54, p.1-5, 2013.
124. PALACIOS, N. et al. Obesity, Diabetes and Risk of Parkinson Disease. *Movement Disorders*, v. 26, n. 12, p. 2253-2259, 2011. doi:10.1002/mds.23855.
125. PENDERS, C.A.; DELWAIDE, P.J. Blink reflex studies in patients with Parkinsonism before and during therapy. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, v. 34, p. 674-678, 1971.
126. PICTON, T.W.; LINS, O.G.; SCHERG, M. The recording and analysis of event-related potentials. *Handbook of Neuropsychology*, v. 10. cap 1. Elsevier B.V. 1995.

127. POLITIS, M.; LINDVALL, O. Clinical application of stem cell therapy in Parkinson's disease. *BMC Med.* 10:1, 2012. Published online 2012 January 4. doi: 10.1186/1741-7015-10-1.PMCID: PMC3261810.
128. PORRAS, G. et al. L-dopa-induced dyskinesia: beyond an excessive dopamine tone in the striatum. *Sci Rep.* 4: 3730, 2014.
129. POSADA, I.J. et al. Mortality from Parkinson's Disease: A Population-Based Prospective Study (NEDICES). *Movement Disorders*, v. 26, n. 14, p. 2522-2529, 2011.
130. POPAT, R.A. et al. Coffee, ADORA2A, and CYP1A2: the caffeine connection in Parkinson's disease. *Eur J Neurol.*, v. 18, n. 5, p. 756-765, 2011. doi:10.1111/j.1468-1331.2011.03353.x.
131. PRAAMSTRA, P. et al. Movement preparation in Parkinson's disease. Time course and distribution of movement-related potentials in a movement precueing task. *Brain*, v. 119, p. 1689-1704, 1996a.
132. PRAAMSTRA, P. et al. Movement-related potential measures of different modes of movement selection in Parkinson's disease. *Journal of the Neurological Sciences*, v. 140, p. 67-74, 1996b.
133. PRAAMSTRA, P. et al. Reliance on external cues for movement initiation in Parkinson's disease. Evidence from movement-related potentials. *Brain*, v. 121, p. 167-177, 1998.
134. PRAAMSTRA, P. et al. I. M. Motor cortex activation in Parkinson's disease: Dissociation of electrocortical and peripheral measures of response generation. *Movement Disorders*, v. 14, n. 5, p. 790-799, 1999.
135. PUBCHEM COMPOUND. Levodopa. Disponível em <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 16 de março de 2014.
136. PUBCHEM COMPOUND. Carbidopa. Disponível em <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 16 de março de 2014.
137. PUBCHEM COMPOUND. Benserazide. Disponível em <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 16 de março de 2014.

138. PULT, H.; RIEDE-PULT, B.H.; MURPHY, P.J. A New Perspective on Spontaneous Blinks. *Ophthalmology*, v. 120, p. 1086-1091, 2013.
139. REDDY, P. et al. Perceptions of symptoms and expectations of advanced therapy for Parkinson's disease: preliminary report of a Patient-Reported Outcome tool for Advanced Parkinson's disease (PRO-APD) Health Qual Life Outcomes, v. 12, n. 11, 2014.
140. REMY, P. et al. Movement and task related activation of motor cortical areas: A positron emission tomographic study. *Annals of Neurology*, v. 36, n. 1, p. 19-26, 1994.
141. SCHAPIRA, A.H.V. et al. Pramipexole in patients with early Parkinson's disease (PROUD): a randomised delayed-start trial. *Lancet Neurol.*, v. 12, n. 8, p. 747-755, 2013.
142. SCHROLL, H.; HAMKER F.H. Computational models of basal-ganglia pathway functions: focus on functional neuroanatomy. *Front Syst Neurosci.* 7: 122, 2013.
143. SEISS, E.; PRAAMSTRA, P. The basal ganglia and inhibitory mechanisms in response selection: evidence from subliminal priming of motor responses in Parkinson's disease. *Brain*, v. 127, p. 330-339, 2004.
144. SHIBASAKI, H.; SHIMA, F.; KUROIWA, Y. Clinical studies of the movement-related cortical potential (MP) and the relation between the detatorubrothalamic pathway and readiness potential (RP). *Journal of Neurology*, v. 2019, n. 1, p.15-25, 1978.
145. SHIBASAKI, H.; HALLET, M. What is the Bereitschaftspotential? *Clinical Neurophysiology*, v. 117, n.11, p. 2341–2356, 2006.
146. SHIMIZU, N.; OKIYAMA, R. Bereitschaftspotential preceding voluntary saccades is abnormal in patients with Parkinson's disease. *Advances in Neurology*, v. 60, p. 398-402, 1993.
147. SHINER, T.; et al. The Effect of Motivation on Movement: A Study of bradykinesia in Parkinson's disease. *PLoS ONE*, v. 7, n. 10, e47138, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0047138.
148. SIMPSON, J.A.; KHURAIBET, A.J. Readiness potential of cortical area 6 preceding self paced movement in Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, v. 50, p. 1184-1191, 1987.

149. SINGH, J. et al. Lack of age effects on human brain potentials preceding voluntary movements. *Neuroscience Letters*, v. 119, n. 1, p. 27-31, 1990.
150. SINGER, C. Managing the patient with newly diagnosed Parkinson disease. *Cleveland Clinic Journal of medicine*, v. 79, Supplement 2, 2012.
151. SKODDA, S. et al. Effect of subthalamic stimulation on voice and speech in Parkinson's disease: For the Better or Worse? *Front Neurol.*, v. 4: 218, 2014.
152. SOLLA, P. et al. Therapeutic interventions and adjustments in the management of Parkinson disease: role of combined carbidopa/levodopa/entacapone (Stalevo®). *Neuropsychiatr Dis Treat.*, v. 6, p. 483-490, 2010. Published online 2010 September 7. PMCID: PMC2938297.
153. STERIO, D. et al. Neurophysiological properties of pallidal neurons in Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, v. 35 (5), p.586-591, 1994.
154. STEVENS, J.R. Disturbances of ocular movements and blinking in schizophrenia. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, v. 41, p. 1024-1030, 1978.
155. TANII, K.; SADOYAMA, T.; SAMESHIMA, M. Temporal relationships of EMG changes preceding voluntary movement to premovement cortical potential shifts. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, v. 67, Issue 5, p. 412-420, 1987.
156. TAYLOR, J.R, et al. Spontaneous Blink Rates Correlate with Dopamine Levels in the Caudate Nucleus of MPTP-Treated Monkeys. *Experimental Neurology*, v.158, p.214-220, 1999.
157. THANH, G.N. et al. Markers of inflammation in prevalent and incident Parkinson's disease in the cardiovascular health study. *Parkinsonism Relat Disord.*, v. 18, n. 3, p. 274-278, 2012.
158. TEO, K.C.; HO, S.L. Monoamine oxidase-B (MAO-B) inhibitors: implications for disease-modification in Parkinson's disease. *Translational Neurodegeneration*, v. 2, n. 19, 2013.

159. TERADA, K. et al. Presence of Bereitschaftspotential preceding psychogenic myoclonus: clinical application of jerk-locked back averaging Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, v. 58, p. 745-747, 1995.
160. TICKLE-DEGNEN, L; ZEBROWITZ, L.A.; HUI-ING MA. Culture, gender and health care stigma: practitioners' response to facial masking experienced by people with Parkinson's disease. Soc Sci Med., v. 73, n.1, p. 95-102, 2011.
161. TYSZKA, J.M. et al. Parcelling of mesial frontal motor areas during ideation and movement using functional magnetic resonance imaging at 1.5 tesla. Annals of Neurology, v. 35, n. 6, p. 746-749, 1994. Abstract
162. TOLOSA, E; KATZENSCHLAGER, R. Pharmacological management of Parkinson's disease. In JANKOVIC, J.; TOLOSA, E. Parkinson's Disease and Movement Disorders. Lippincott Williams and Wilkins. 5. ed. Chapter 10. p. 113-116, 2006.
163. TOUGE, T. et al. Movement-related cortical potentials preceding repetitive and random-choice hand movements in Parkinson's disease. Annals of Neurology, v. 37, Issue 6, p. 791-799, 1995. Abstract
164. TRENKWALDER, C. et al. Bereitschaftspotential in idiopathic and symptomatic restless legs syndrome. Electroencephalography Clinical Neurophysiology, v. 89, n.2, p.95-103, 1993.
165. TRUONG, D.D. Tolcapone: review of its pharmacology and use as adjunctive therapy in patients with Parkinson's disease. Clin Interv Aging., v. 4, p. 109-113, 2009. Published online 2009 May 14. PMCID: PMC2685232.
166. UEKI, Y. et al. Altered plasticity of the human motor cortex in Parkinson's disease. Annals of Neurology, v. 59, ed., p. 60-71, 2006.
167. UPDRS: The Unified Parkinson's Disease Rating Scale: Status and recommendations. Movement Disorders, v.18, p. 738-750, 2003.
168. VALLS-SOLÉ, J. et al. Abnormal facilitation of the response to transcranial magnetic stimulation in patients with Parkinson's disease. Neurology, v. 44, n. 4, p. 735-41, 1994.

169. VALLS-SOLÉ, J. Neurophysiology of motor control and movement disorders. In JANKOVIC, J.; TOLOSA, E. Parkinson's Disease and Movement Disorders. Lippincott Williams and Wilkins, 5. ed. Chapter 2. p. 7-19, 2006.
170. van der MARK, M. et al. Is Pesticide use related to Parkinson disease? Some clues to heterogeneity in study results. *Environmental Health Perspectives*, v. 120, n. 3, 2012.
171. VASSAR, S.D. et al. Confirmatory factor analysis of the motor unified Parkinson's disease rating scale. *Research Article*. Hindawi Publishing Corporation. *Parkinson's Disease*, v. 2012, Article ID 719167, 10 pages, 2012.
172. VERLEGER, R. et al. Responsiveness to distracting stimuli, though increased in Parkinson's disease, is decreased in asymptomatic PINK1 and Parkin mutation Carriers. *Neuropsychologia*, v. 48, p. 467-476, 2010.
173. VIDAILHET, M. et al. The Bereitschaftspotential preceding simple foot movement and initiation of gait in Parkinson's disease. *Neurology*, v. 43, n. 9, p. 1784-1788, 1983.
174. WAYNE MARTIN, W. R. et al. Intact pre supplementary motor area function in early, untreated Parkinson's disease. *Movement Disorders*, v. 23, n. 12, 2008.
175. WHEATON, L.A.; SHIBASAKI, H.; HALLETT, M. Temporal activation pattern of parietal and premotor areas related to praxis movements. *Clinical Neurophysiology*, v. 116, Issue 5, p. 1201-1212, 2005.
176. WHEATON, L.A. et al. Synchronization of parietal and premotor areas during preparation and execution of praxis hand movements. *Clinical Neurophysiology*, v. 116, Issue 6, p. 1382-1390, 2005.
177. WILLIS, A.W. et al. Predictors of Survival in Parkinson Disease. *Arch Neurol.*, v. 69, n.5, p. 601-607, 2012. doi:10.1001/archneurol.2011.2370.
178. YAMAMOTO, J. et al. Human eye fields in the frontal lobe as studied by epicortical recording of movement-related cortical potentials. *Brain*, v. 127, p. 873-887, 2004.
179. YOSHIDA, K. et al. Cortical distribution of Bereitschaftspotential and negative slope potential preceding mouth-opening movements in humans. *Archives of Oral Biology*, v. 44, p. 183-190, 1999.

180. YODIM, M.B.H. Multi target neuroprotective and neurorestorative anti-Parkinson and anti-Alzheimer drugs Ladostigil and M30 derived from Rasagiline. *Exp Neurobiol.*, v.22, n.1, p. 1-10, 2013. pISSN 1226-2560, eISSN 2093-8144.
181. YU, R. et al. Enhanced functional connectivity between putamen and supplementary motor area in Parkinson's disease patients. *PLoS ONE*, v. 8, n.3, e59717, 2013. doi:10.1371/journal.pone.0059717.

ANEXO A
Mini Exame do Estado Mental

Orientação tempo (0-5 pontos)

* Qual é o (ano) (estação) (dia/semana) (dia/mês) e (mês):_____

Orientação no espaço (0-5 pontos)

* Onde estamos (país) (estado) (cidade) (rua ou local) (andar):_____

Memória Imediata (0-3 pontos)

* Dizer três palavras: PENTE RUA AZUL. Pedir para prestar atenção, pois terá que repetir mais tarde. Pergunte pelas três palavras após tê-las nomeado. Repetir até que evoque corretamente e anotar número de vezes:_____

Atenção e cálculo (0-5 pontos)

* Subtrair: 100-7 (cinco tentativas: 93 – 86 – 79 – 72 – 65):_____

* Se não faz cálculo, soletrar a palavra MUNDO de trás para frente:_____

Evocação (0-3 pontos)

* Perguntar pelas 3 palavras anteriores (pente – rua - azul):_____

Linguagem

*Identificar lápis e relógio de pulso (0-2 pontos):_____

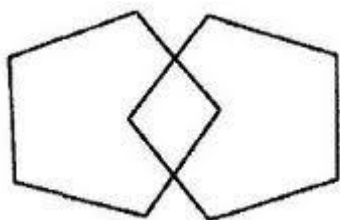
* Repetir: “Nem aqui, nem ali, nem lá” (0-1 ponto):_____

* Seguir o comando de três estágios: “Pegue o papel com a mão direita, dobre ao meio e ponha no chão” (0-3 pontos):_____

* Ler ‘em voz baixa’ e executar: FECHE OS OLHOS (0-1 ponto):_____

* Escrever uma frase (um pensamento, idéia completa) (0-1 ponto):

* Copiar o desenho:



Total: _____

ANEXO B**ESCALA UNIFICADA DE AVALIAÇÃO PARA DOENÇA DE PARKINSON – UPDRS**

Identificação: _____

Idade: _____

I. ESTADO MENTAL/COMPORTAMENTO/ESTADO EMOCIONAL:**1. Comportamento intelectual:**

0= NENHUM

1= MÍNIMO. Esquecimento consistente com lembrança parcial de eventos, sem outras dificuldades.

2= MODERADO. Perda moderada da memória, com desorientação. Dificuldade moderada para resolver problemas complexos. Mínimo, mas definitivo comprometimento das atividades em casa, com necessidade de ajuda ocasional.

3= GRAVE. Perda grave de memória com desorientação temporal e, frequentemente de lugar. Grande dificuldade de resolver problemas.

4= MUITO GRAVE. Perda grave da memória com orientação preservada apenas para sua pessoa. Incapaz de fazer julgamentos ou resolver problemas. Necessita de muita ajuda para cuidados pessoais. Não pode ficar sozinho em nenhuma situação.

2. Desordem do pensamento (devido à demência ou intoxicação por drogas):

0= nenhum.

1= sonhos vívidos.

2= alucinações “benignas” com julgamento (insight) mantido

3= ocasionais a freqüentes alucinações sem julgamento, podendo interferir com as atividades diárias.

4= alucinações freqüentes ou psicose evidente. Incapaz de cuidar-se.

3. Depressão:

0= ausente

1= períodos de tristeza ou culpa acima do normal. Nunca permanece por dias ou semanas.

2= depressão permanente (uma semana ou mais).

3= depressão permanente com sintomas vegetativos (insônia, anorexia, perda de peso, desinteresse).

4= depressão permanente com sintomas vegetativos. Pensamento ou tentativa de suicídio.

4. Motivação/iniciativa:

0= normal.

1= mais passivo, menos interessado que o habitual.

2= perda da iniciativa ou desinteresse por atividades fora da rotina.

3= Perda da iniciativa ou desinteresse por atividades do dia a dia.

4= Retraído. Perda completa de motivação.

II. ATIVIDADES DA VIDA DIÁRIA

5. Fala:

0= normal

1= comprometimento superficial. Nenhuma dificuldade em ser entendido.

2= comprometimento moderado. Solicitado a repetir frases, às vezes.

3= comprometimento grave. Solicitado frequentemente a repetir frases.

4= retraído, perda completa da motivação.

6. Salivação:

0= normal

1= excesso mínimo de saliva, mas perceptível. Pode babar à noite.

2= excesso moderado de saliva. Pode apresentar alguma baba (drooling).

3= excesso acentuado de saliva. Baba frequentemente.

4= baba continuamente. Precisa de lenço constantemente.

7. Deglutição:

0= normal

1= engasgos raros

2= engasgos ocasionais

3= deglute apenas alimentos moles.

4= necessita de sonda nasogástrica ou gastrostomia.

8. Escrita:

0= normal

1= um pouco lenta ou pequena.

2= menor e mais lenta, mas as palavras são legíveis.

3= gravemente comprometida. Nem todas as palavras são comprometidas.

4= a maioria das palavras não são legíveis.

9. Cortar alimentos ou manipular utensílios:

0= normal

1= lento e desajeitado, mas não precisa de ajuda.

2= capaz de cortar os alimentos, embora desajeitado e lento. Pode precisar de ajuda.

3= alimento cortado por outros, ainda pode alimentar-se, embora lentamente.

4= precisa ser alimentado por outros.

10. Vestir:

0= normal.

1= lento, mas não precisa de ajuda.

2= necessita de ajuda para abotoar e colocar os braços em mangas de camisa.

3= necessita de bastante ajuda, mas consegue fazer algumas coisas sozinho.

4= não consegue vestir-se (nenhuma peça) sem ajuda.

11. Higiene:

0= normal.

1= lento, mas não precisa de ajuda.

2= precisa de ajuda no chuveiro ou banheira, ou muito lento nos cuidados de higiene.

3= necessita de assistência para se lavar, escovar os dentes, pentear-se, ir ao banheiro.

4= sonda vesical ou outra ajuda mecânica.

12. Girar no leito e colocar roupas de cama:

0= normal.

1= lento e desajeitado, mas não precisa de ajuda.

2= pode girar sozinho na cama ou colocar os lençóis, mas com grande dificuldade.

3= pode iniciar, mas não consegue rolar na cama ou colocar lençóis.

4= não consegue fazer nada.

13. Quedas (não relacionadas ao *freezing*):

0= nenhuma

1= quedas raras.

2= cai ocasionalmente, menos de uma vez por dia.

3= cai, em média, uma vez por dia.

4= cai mais de uma vez por dia.

14. Freezing quando anda:

0= nenhum

1= raro freezing quando anda, pode ter hesitação no início da marcha.

2= freezing ocasional, enquanto anda.

3= freezing frequente, pode cair devido ao freezing.

4= quedas frequentes devido ao freezing.

15. Marcha:

0= normal.

1= pequena dificuldade. Pode não balançar os braços ou tende a arrastar as pernas.

2= dificuldade moderada, mas necessita de pouca ajuda ou nenhuma.

3= dificuldade grave na marcha, necessita de assistência.

4= não consegue andar, mesmo com ajuda.

16. Tremor:

0= ausente.

1= presente, mas infrequente.

2= moderado, mas incomoda o paciente.

3= grave. Interfere com muitas atividades.

4= marcante. Interfere na maioria das atividades.

17. Queixas sensitivas relacionadas ao parkinsonismo:

0= nenhuma.

1= dormência e formigamento ocasional, alguma dor.

2= dormência, formigamento e dor frequente, mas suportável.

3= sensações dolorosas frequentes.

4= dor insuportável.

III. EXAME MOTOR (*On*):

18. Fala:

0= normal.

1= perda discreta da expressão, volume ou dicção.

2= comprometimento moderado. Arrastado, monótono, mas compreensível.

3= comprometimento grave, difícil de ser entendido.

4= incompreensível.

19. Expressão facial:

0= normal.

1= hipomímia mínima.

2= diminuição pequena, mas anormal, da expressão facial.

3= hipomímia moderada, lábios caídos/afastados por algum tempo.

4= fácies em máscara ou fixa, com pedra grave ou total da expressão facial. Lábios afastados $\frac{1}{4}$ de polegada ou mais.

20. Tremor de repouso (1– Face, lábios e queixo; 2– Mão D; 3– Mão E; 4– Pé D; 5– Pé E):

0= ausente.

1= presente, mas infrequente ou leve.

2= persistente, mas de pouca amplitude, ou moderado em amplitude, mas presente de maneira intermitente.

3= moderado em amplitude, mas presente a maior parte do tempo.

4= com grande amplitude e presente a maior parte do tempo.

21. Tremor postural ou de ação nas mãos (1– Mão D; 2– Mão E):

0= ausente

1= leve, presente com a ação.

2= moderado em amplitude, presente com a ação.

3= moderado em amplitude tanto na ação quanto mantendo a postura.

4= grande amplitude, interferindo com a alimentação.

22. Rigidez (movimento passivo das grandes articulações, com paciente sentado e relaxado, ignorar roda denteada) (1– Pescoço; 2– MSD; 3– MSE; 4– MID; 5– MIE):

0= ausente

1= pequena ou detectável somente quando ativado por movimentos em espelho de outros.

2= leve e moderado.

3= marcante, mas pode realizar o movimento completo da articulação.

4= grave e o movimento completo da articulação só ocorre com grande dificuldade.

23. Bater dedos continuamente – polegar no indicador em sequências rápidas com a maior amplitude possível, uma mão de cada vez (1– Lado Direito; 2– Lado Esquerdo):

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

24. Movimentos das mãos (abrir e fechar as mãos em movimentos rápidos e sucessivos e com a maior amplitude possível, uma mão de cada vez) – (1– Lado Direito; 2– Lado Esquerdo):

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

25. Movimentos rápidos alternados das mãos (pronação e supinação das mãos, horizontal ou verticalmente, com a maior amplitude possível, as duas mãos simultaneamente) – (1– Lado Direito; 2– Lado Esquerdo):

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

26. Agilidade da perna (bater o calcanhar no chão em sucessões rápidas, levantando toda a perna, a amplitude do movimento deve ser de cerca de 3 polegadas/ $\pm 7,5$ cm) – (1– Lado Direito; 2– Lado Esquerdo):

0= normal.

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

27. Levantar da cadeira sem ajuda (de espaldo reto, madeira ou ferro, com braços cruzados em frente ao peito):

0= normal

1= lento ou pode precisar de mais de uma tentativa

2= levanta-se apoiando nos braços da cadeira.

3= tende a cair para trás, pode tentar se levantar mais de uma vez, mas consegue levantar.

4= incapaz de levantar-se sem ajuda.

28. Postura:

0= normal em posição ereta.

1= não bem ereto, levemente curvado para frente, pode ser normal para pessoas mais velhas.

2= moderadamente curvado para frente, definitivamente anormal, pode inclinar-se um pouco para os lados.

3= acentuadamente curvado para frente com cifose, inclinação moderada para um dos lados.

4= bem fletido com anormalidade acentuada da postura.

29. Marcha:

0= normal

1= anda lentamente, pode arrastar os pés com pequenas passadas, mas não há festinação ou propulsão.

2= anda com dificuldade, mas precisa de pouca ajuda ou nenhuma, pode apresentar alguma festinação, passos curtos, ou propulsão.

3= comprometimento grave da marcha, necessitando de ajuda.

4= não consegue andar sozinho, mesmo com ajuda.

30. Estabilidade postural (respostas ao deslocamento súbito para trás, puxando os ombros, com paciente ereto, de olhos abertos, pés separados, informado a respeito do teste):

0= normal

1= retropulsão, mas se recupera sem ajuda.

2= ausência de respostas posturais, cairia se não fosse auxiliado pelo examinador.

3= muito instável, perde o equilíbrio espontaneamente.

4= incapaz de ficar ereto sem ajuda.

31. Bradicinesia e hipocinesia corporal (combinação de hesitação, diminuição do balançar dos braços, pobreza e pequena amplitude de movimentos em geral):

0= nenhum.

1= lentidão mínima. Podia ser normal em algumas pessoas. Possível redução na amplitude.

2= movimento definitivamente anormal. Pobreza de movimento e um certo grau de lentidão.

3= lentidão moderada. Pobreza de movimento ou com pequena amplitude.

4= lentidão acentuada. Pobreza de movimento ou com pequena amplitude.

III. EXAME MOTOR (*Off*):

18. Fala:

0= normal.

1= perda discreta da expressão, volume ou dicção.

2= comprometimento moderado. Arrastado, monótono, mas compreensível.

3= comprometimento grave, difícil de ser entendido.

4= incompreensível.

19. Expressão facial:

0= normal.

1= hipomímia mínima.

2= diminuição pequena, mas anormal, da expressão facial.

3= hipomímia moderada, lábios caídos/afastados por algum tempo.

4= fácies em máscara ou fixa, com pedra grave ou total da expressão facial. Lábios afastados $\frac{1}{4}$ de polegada ou mais.

20. Tremor de repouso (1– Face, lábios e queixo; 2– Mão D; 3– Mão E; 4– Pé D; 5– Pé E):

0= ausente.

1= presente, mas infrequente ou leve.

2= persistente, mas de pouca amplitude, ou moderado em amplitude, mas presente de maneira intermitente.

3= moderado em amplitude, mas presente a maior parte do tempo.

4= com grande amplitude e presente a maior parte do tempo.

21. Tremor postural ou de ação nas mãos (1– Mão D; 2– Mão E):

0= ausente

1= leve, presente com a ação.

2= moderado em amplitude, presente com a ação.

3= moderado em amplitude tanto na ação quanto mantendo a postura.

4= grande amplitude, interferindo com a alimentação.

22. Rigidez (movimento passivo das grandes articulações, com paciente sentado e relaxado, ignorar roda denteada) (1– Pescoço; 2– MSD; 3– MSE; 4– MID; 5– MIE):

0= ausente

1= pequena ou detectável somente quando ativado por movimentos em espelho de outros.

2= leve e moderado.

3= marcante, mas pode realizar o movimento completo da articulação.

4= grave e o movimento completo da articulação só ocorre com grande dificuldade.

23. Bater dedos continuamente – polegar no indicador em seqüências rápidas com a maior amplitude possível, uma mão de cada vez (1– Lado Direito; 2– Lado Esquerdo):

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

24. Movimentos das mãos (abrir e fechar as mãos em movimentos rápidos e sucessivos e com a maior amplitude possível, uma mão de cada vez) (1– Lado Direito; 2– Lado Esquerdo):

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

25. Movimentos rápidos alternados das mãos (pronação e supinação das mãos, horizontal ou verticalmente, com a maior amplitude possível, as duas mãos simultaneamente) (1– Lado Direito; 2– Lado Esquerdo):

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

26. Agilidade da perna (bater o calcanhar no chão em sucessões rápidas, levantando toda a perna, a amplitude do movimento deve ser de cerca de 3 polegadas/ $\pm 7,5$ cm) – (1– Lado Direito; 2– Lado Esquerdo):

0= normal.

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

27. Levantar da cadeira sem ajuda (de espaldo reto, madeira ou ferro, com braços cruzados em frente ao peito):

0= normal

1= lento ou pode precisar de mais de uma tentativa

2= levanta-se apoiando nos braços da cadeira.

3= tende a cair para trás, pode tentar se levantar mais de uma vez, mas consegue levantar

4= incapaz de levantar-se sem ajuda.

28. Postura:

0= normal em posição ereta.

1= não bem ereto, levemente curvado para frente, pode ser normal para pessoas mais velhas.

2= moderadamente curvado para frente, definitivamente anormal, pode inclinar-se um pouco para os lados.

3= acentuadamente curvado para frente com cifose, inclinação moderada para um dos lados.

4= bem fletido com anormalidade acentuada da postura.

29. Marcha:

0= normal

1= anda lentamente, pode arrastar os pés com pequenas passadas, mas não há festinação ou propulsão.

2= anda com dificuldade, mas precisa de pouca ajuda ou nenhuma, pode apresentar alguma festinação, passos curtos, ou propulsão.

3= comprometimento grave da marcha, necessitando de ajuda.

4= não consegue andar sozinho, mesmo com ajuda.

30. Estabilidade postural (respostas ao deslocamento súbito para trás, puxando os ombros, com paciente ereto, de olhos abertos, pés separados, informado a respeito do teste):

0= normal

1= retropulsão, mas se recupera sem ajuda.

2= ausência de respostas posturais, cairia se não fosse auxiliado pelo examinador.

3= muito instável, perde o equilíbrio espontaneamente.

4= incapaz de ficar ereto sem ajuda.

31. Bradicinesia e hipocinesia corporal (combinação de hesitação, diminuição do balançar dos braços, pobreza e pequena amplitude de movimentos em geral):

0= nenhum.

1= lentidão mínima. Podia ser normal em algumas pessoas. Possível redução na amplitude.

2= movimento definitivamente anormal. Pobreza de movimento e um certo grau de lentidão.

3= lentidão moderada. Pobreza de movimento ou com pequena amplitude.

4= lentidão acentuada. Pobreza de movimento ou com pequena amplitude.

IV. COMPLICAÇÕES DA TERAPIA MEDICAMENTOSA (NA SEMANA QUE PASSOU):

A . DISCINESIAS

32. Duração. Que percentual do dia acordado apresenta discinesias?

0= nenhum

1= 25% do dia.

2= 26 – 50% do dia.

3= 51 – 75% do dia.

4= 76 – 100% do dia.

33. Incapacidade. Quão incapacitante é a discinesia?

0= não incapacitante.

1= incapacidade leve.

2= incapacidade moderada.

3= incapacidade grave.

4= completamente incapaz.

34. Discinesias dolorosas. Quão dolorosas são as discinesias?

0= não dolorosas.

1= leve.

2= moderada.

3= grave.

4= extrema.

35. Presença de distonia ao amanhecer.

0= não 1= sim

B. FLUTUAÇÕES CLÍNICAS**36. Algum período Off previsível em relação ao tempo após a dose do medicamento?**

0= não 1= sim

37. Algum período Off imprevisível em relação ao tempo após a dose do medicamento?

0= não 1= sim

38. Algum período Off se instala subitamente? Em poucos segundos?

0= não 1= sim

39. Qual o percentual de tempo acordado, em um dia, o paciente está em Off, em média?

0= nenhum

1= 25% do dia.

2= 26 - 50% do dia.

3= 51 – 75% do dia.

4= 76 – 100% do dia.

C. OUTRAS COMPLICAÇÕES:

40. O paciente apresenta anorexia, náusea ou vômito?

0= não 1= sim

41. O paciente apresenta algum distúrbio do sono? Insônia ou hipersonolência.

0= não 1= sim

42. O paciente apresenta hipotensão ortostática sintomática?

0= não 1= sim.

Data da Avaliação: _____

ANEXO C

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



PROJETO DE PESQUISA

Título: POTENCIAL PRÉ-MOTOR(BEREITSCHAFTPOTENTIAL)RELACIONADO AO PISCAMENTO OCULAR EM SUJEITOS NORMAIS E PARKINSONIANOS

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 03397212.5.0000.5207

Pesquisador: Isabella Araujo Mota

Instituição: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 90.208

Data da Relatoria: 06/09/2012

Apresentação do Projeto:

Este projeto visa estudar o potencial pré-motor (Potencial de Bereitschaft)relacionado ao piscamento ocular em pacientes com Doença de Parkinson em uso da Levodopa (período on)e sem Levodopa (período off). Este mecanismo avalia a influencia desta droga na elaboração e realização do movimento por meio da análise de potenciais no córtex motor primário e área motora suplementar

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o Potencial Pré-Motor relacionado ao piscamento e a atos motores simples em sujeitos normais e com Doença de Parkinson.

Objetivo Secundário:

Estudar o componente precoce e tardio do potencial pré-motor relacionado ao piscamento espontâneo, voluntário e reflexo em sujeitos normais.

Estudar o componente precoce e tardio do potencial pré-motor relacionado ao piscamento espontâneo, voluntário e reflexo em sujeitos com doença de Parkinson na fase "off". Estudar o componente precoce e tardio do potencial pré-motor relacionado ao piscamento espontâneo, voluntário e reflexo em sujeitos com doença de Parkinson na fase "on". Verificar as diferenças entre o componente precoce e tardio do potencial pré-motor relacionado ao piscamento espontâneo, voluntário e reflexo de sujeitos normais e com doença de Parkinson entre as fases "on" e "off". Verificar as diferenças entre o componente precoce e tardio do potencial pré-motor relacionado ao piscamento espontâneo, voluntário e reflexo entre os estágios da doença de Parkinson de acordo a escala de Hoehn e Yahr. Verificar o componente precoce e tardio do potencial pré-motor relacionado aos

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.740-600

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

Fax: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-**



movimentos espontâneo, voluntário e reflexo em sujeitos com doença de Parkinson nos períodos "on" e "off".

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios estão mais adequados, quando comparados com os anteriores.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não existem ainda estudos que tenham avaliado o BP ((Potencial de Bereitschaft) no piscamento ocular dos pacientes com DP, um sinal semiológico clássico caracterizado por redução da frequência e da velocidade deste ato motor. Por ser a droga mais efetiva no tratamento desta comorbidade será avaliada a influência da Levodopa sobre estes potenciais, tornando a pesquisa atualizada e adequada aos objetivos.

Hipótese:

A efetividade da Levodopa na Doença de parkinson é decorrente de sua ação na área motora

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Na data de emissão desse parecer estava pendente (1) parecer de instituições coparticipantes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

a)O TCLE está anexado e a indicações de RISCOS e BENEFÍCIOS estão mais adequados, pois foram modificados. Informa-se que os benefícios no relatório da pesquisa estão diferentes daqueles apresentados no TCLE

b)Apresenta a FROSTO e Carta de Anuência do Serviço onde será realiza a pesquisa;

c)A carta de confidencialidade não foi apresentada, pois a pesquisadora dar a entender, no relatório, que não existem dados secundários, apesar de ter informado que a carta estava anexada.
que vai manter o sigilo dos dados pessoais;

Recomendações:

Recomenda-se melhorar a redação dos benefícios, no TCLE, indicando o encaminhando do paciente, para setor especializado, quando necessário.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O trabalho pode ser aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado aprova o parecer do protocolo em questão para início da coleta de dados.

Projeto foi avaliado e sua APROVAÇÃO definitiva será dada, por meio de ofício impresso, após a entrega do relatório final ao Comitê de Ética em Pesquisa/UFPE.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS

Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600

UF: PE **Município:** RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

Fax: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



RECIFE, 04 de Setembro de 2012

Assinado por:
GERALDO BOSCO LINDOSO COUTO

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br

APÊNDICE A

**Protocolo de Pesquisa do estudo: POTENCIAL PRÉ-MOTOR
(BEREITSCHAFTSPOTENTIAL) RELACIONADO AO PISCAMENTO OCULAR
EM SUJEITOS NORMAIS E PARKINSONIANOS**

Nome: _____

Sexo: () M () F Idade: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Dominância cerebral: _____

Tempo de doença: _____

Lado de início das queixas: _____

Lado mais acometido no momento: _____

Outras comorbidades: _____

Medicações em uso: _____

Escala de Hoehn & Yahr

() Estágio 0= sem sinais de doença

() Estágio 1= doença unilateral

() Estágio 2= doença bilateral, sem comprometimento do equilíbrio

() Estágio 3= doença leve a moderada bilateral, alguma instabilidade postural e fisicamente independente

() Estágio 4= Severa incapacidade, mas ainda apto de andar ou ficar em pé sem assistência

() Estágio 5= Restritos a cadeira de rodas ou acamados, a menos que sejam ajudados

APÊNDICE B

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO HOSPITAL DAS CLÍNICAS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convido o (a) Sr.(a) para participar, como voluntário (a), da pesquisa **POTENCIAL PRÉ-MOTOR (BEREITSCHAFTSPOTENTIAL) RELACIONADO AO PISCAMENTO OCULAR EM SUJEITOS NORMAIS E PARKINSONIANOS**.

Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado (a) de forma alguma. Em caso de dúvida quanto aos aspectos éticos você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, Sla 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740- 600 Tel.: 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).**

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

POTENCIAL PRÉ-MOTOR (BEREITSCHAFTSPOTENTIAL) RELACIONADO AO PISCAMENTO OCULAR EM SUJEITOS NORMAIS E PARKINSONIANOS

Pesquisadora responsável: Isabella Araújo Mota

Pesquisadores participantes: Dinaldo Cavalcanti de Oliveira e Otavio Gomes Lins

Contato da pesquisadora: Avenida São Paulo, 1344. Edifício Monte Carlos, apt:104, Bairro dos Estados, Joao Pessoa-PB. CEP: 050030-040. Telefone: 81-97531275. E-mail: isabella_mota@yahoo.com.br. Outro telefone para contato: 83- 87875484.

O exame consta da avaliação do piscamento ocular por meio da colocação de eletrodos de eletroencefalograma (EEG) no couro cabeludo e captação dos registros em um computador. O voluntário (a) permanecerá sentado em cadeira confortável enquanto assiste a um filme, em seguida será solicitado para o mesmo piscar a cada 5 segundos e por fim haverá estímulo ao piscamento por meio de um “puff de ar” no olho. Este procedimento será realizado com e sem a Levodopa (medicamento já de seu uso contínuo).

O exame pode gerar cansaço e um leve desconforto quanto ao atrito da pele, durante a colocação dos eletrodos do EEG. Estes fatores serão minimizados pela permanência do paciente em ambiente confortável e explicação prévia das etapas do exame. A duração total do exame é de uma hora. A marcação do exame será de acordo com a disponibilidade do paciente e dos pesquisadores.

Os voluntários submetidos ao estudo se beneficiarão de informações pertinentes ao conhecimento sobre a sua doença, além de possível obtenção de novas alternativas terapêuticas de acordo com o resultado do estudo. Os resultados deste estudo poderão ser

aproveitados para fins de ensino e pesquisa científica sendo garantido o sigilo e a garantia de retirar o consentimento da pesquisa, pelo (a) voluntário (a), a qualquer momento sem qualquer prejuízo da continuidade do acompanhamento/ tratamento usual.

Os registros e resultados da pesquisa serão guardados no laboratório de neurofisiologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco por cinco anos sob responsabilidade da pesquisadora principal.

♦ Nome e Assinatura do pesquisador _____

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, _____, RG/
CPF/_____

abaixo assinado, concordo em participar do estudo **POTENCIAL PRÉ-MOTOR (BEREITSCHAFTSPOTENTIAL) RELACIONADO AO PISCAMENTO OCULAR EM SUJEITOS NORMAIS E PARKINSONIANOS** como sujeito. Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pela pesquisadora Isabella Araújo Mota sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

Local e data _____

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável:

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

02 testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____

Assinatura: _____

Nome: _____

Assinatura: _____