



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

Talyta Cortez Grippe

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CLÍNICOS E NEUROFISIOLÓGICOS DO  
ULTRASSOM TRANSCRANIANO FOCAL DE BAIXA INTENSIDADE EM  
PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON**

Belo Horizonte

2023

Talyta Cortez Grippe

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CLÍNICOS E NEUROFISIOLÓGICOS DO  
ULTRASSOM TRANSCRANIANO FOCAL DE BAIXA INTENSIDADE EM  
PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Neurociências.

**Orientador:** Prof. Francisco Eduardo Costa Cardoso

**Coorientador:** Prof. Robert E Wei Chen

Belo Horizonte

2023

043

Grippe, Talyta Cortez.

Avaliação dos efeitos clínicos e neurofisiológicos do ultrassom transcraniano focal de baixa intensidade em pacientes com Doença de Parkinson [manuscrito] / Talyta Cortez Grippe. – 2023.

157 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Francisco Eduardo Costa Cardoso. Coorientador: Prof. Robert E Wei Chen.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

1. Neurociências. 2. Doença de Parkinson. 3. Estimulação Magnética Transcraniana. 4. Plasticidade Neuronal. 5. Excitabilidade Cortical. I. Cardoso, Francisco Eduardo Costa. II. Chen, Robert E Wei. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 612.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**ATA DE DEFESA DE TESE DA ALUNA**

**TALYTA CORTEZ GRIPPE**

Realizou-se, no dia 19 de dezembro de 2023, às 14:00 horas, na sala 526 Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a 108ª defesa de tese, intitulada *AVALIAÇÃO DOS EFEITOS CLÍNICOS E NEUROFISIOLÓGICOS DO ULTRASSOM TRANSCRANIANO FOCAL DE BAIXA INTENSIDADE EM PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON*, apresentada por TALYTA CORTEZ GRIPPE, número de registro 2021662424, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em NEUROCIÊNCIAS, à seguinte Comissão Examinadora: Prof. Francisco Eduardo Costa Cardoso - Orientador (UFMG), Prof. Robert e Wei Chen – Coorientador (Universidade de Toronto), Prof. Vitor Tumas (USP), Profa. Sarah Teixeira Camargos (UFMG), Prof. Paulo Pereira Christo (UFMG), Prof. Joaquim Brasil (Centro Universitário Unieuro).

A Comissão considerou a tese:

( X ) Aprovada

( ) Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 19 de dezembro de 2023.

Carlos Magno Machado Dias - Secretário(a)

Assinatura dos membros da banca examinadora:

Prof. Francisco Eduardo Costa Cardoso (Doutor)

Prof. Robert e Wei Chen (Doutor)

Prof. Vitor Tumas (Doutor)

Profa. Sarah Teixeira Camargos (Doutora)

Prof. Paulo Pereira Christo (Doutor)

Prof. Joaquim Pereira Brasil Neto (Doutor)



Documento assinado eletronicamente por **Vitor Tumas, Usuário Externo**, em 19/12/2023, às 16:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Joaquim Pereira Brasil Neto, Usuário Externo**, em 19/12/2023, às 16:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sarah Teixeira Camargos, Membro de comissão**, em 24/12/2023, às 15:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Robert E Wei Chen, Usuário Externo**, em 27/12/2023, às 23:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Francisco Eduardo Costa Cardoso, Membro de comitê**, em 07/01/2024, às 20:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Pereira Christo, Professor do Magistério Superior**, em 08/01/2024, às 21:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador 2906825 e o código CRC B5B0B180.

Aos meus pais, Márcia e Lupércio, minha fonte inesgotável de resiliência e sabedoria

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha sincera gratidão a todos que desempenharam um papel fundamental em minha jornada de doutorado. Em especial, meu profundo agradecimento ao meu amado parceiro de vida, Ronaldo, que foi meu pilar de força, oferecendo apoio incansável, amor, compreensão e incentivo em todos os momentos desafiadores.

Minha família, o alicerce sólido da minha trajetória, merece um reconhecimento especial. Agradeço à minha mãe e meu pai pelo encorajamento constante e pelos valores que moldaram meu caminho. À minha avó Waldelice, cuja sabedoria e carinho são uma fonte constante de inspiração. Aos meus avós Candido, Lia e Pedro (in memoriam), que observam de longe meu esforço, alegrando-se com minhas conquistas, e que permanecerão para sempre parte integrante de quem sou.

À minha irmã Tamara, agradeço pela cumplicidade e apoio inabalável, pelas infundáveis conversas telefônicas e pelo estímulo constante. Aos meus irmãos Dattolly e Dallysson e suas esposas Adriane e Carol, agradeço pelo suporte e pela torcida incessante. Cada membro da minha família desempenhou um papel fundamental no meu sucesso, e por isso sou eternamente grata. Aos meus sobrinhos Vitor, Tiago, Manuela e Fernanda, fontes de alegria e luz, que me motivaram a seguir em frente.

Além da minha querida família, expresso minha gratidão aos meus colegas de trabalho e amigos, que tornaram esta jornada de doutorado ainda mais significativa.

Aos meus colegas de trabalho, Yazan Shamli-Oghli, Ghazaleh Darmani, Tarun Arora, Jean-François Nankoo, Carolyn Gunraj, Paul Saha, agradeço pela colaboração, troca de conhecimentos e pelo ambiente enriquecedor que contribuiu para o meu crescimento profissional e acadêmico. Também agradeço aos meus colegas de pós-graduação, sempre prestativos, que foram fundamentais nessa caminhada. Juntos, enfrentamos desafios e celebramos conquistas, formando uma equipe que fez toda a diferença.

Aos meus amigos, em especial Sarah e Junior, Robi, Ana Lu e Natália, que foram uma fonte constante de apoio emocional e incentivo, agradeço por estarem ao meu lado nos momentos de alegria e nos desafios. Suas palavras amigas e gestos de solidariedade fizeram toda a diferença.

Aos meus orientadores, Prof. Francisco Cardoso e Prof. Robert Chen, cuja orientação sábia e dedicada foi um farol de sabedoria, moldando não apenas meu trabalho acadêmico, mas também meu crescimento como pesquisadora. E agradeço também aos membros da banca que enriqueceram o trabalho com suas sugestões.

Cada um de vocês desempenhou um papel valioso na minha jornada, e sou grata por ter compartilhado este período tão importante da minha vida com pessoas tão especiais.

“A invenção do hoje é o meu único meio de instaurar o futuro.”

Clarice Lispector

## RESUMO

A estimulação por ultrassom transcraniano focal de baixa intensidade (UFBI) é uma nova técnica de estimulação cerebral não invasiva com alta resolução espacial. O UFBI pode reduzir transitoriamente a excitabilidade cortical durante a sonicação (efeito *online*). O UFBI no modo *thetaburst* (tbUFBI) induz aumento da excitabilidade cortical por até 30 minutos (efeito *offline*), provavelmente devido a um efeito de plasticidade semelhante à potenciação de longo prazo (LTP). Como a doença de Parkinson (DP) é conhecida por ter excitabilidade cortical e plasticidade alteradas, nosso objetivo foi avaliar os efeitos clínicos e neurofisiológicos do UFBI aplicado ao córtex motor primário (M1) em pacientes com DP. Vinte pacientes com DP foram avaliados (4 mulheres, idade média de  $59,1 \pm 8,7$  anos) tanto no estado 'ON' quanto 'OFF' da medicação dopaminérgica, e 17 controles saudáveis (5 mulheres,  $63,7 \pm 9,2$  anos). Foram também testados 7 pacientes (3 mulheres,  $66,4 \pm 8,7$  anos) com DP recém diagnosticados (DP-*denovo*). O protocolo *online* consistiu na sonicação do M1 com intensidades de  $20\text{W}/\text{cm}^2$  (ativo) e  $0\text{W}/\text{cm}^2$  (placebo), com medidas simultâneas de potencial evocado motor (PEM) por estimulação magnética transcraniana (EMT). O protocolo *offline* consistiu em 80 segundos de tbUFBI em M1 com intensidade de  $20\text{W}/\text{cm}^2$ . A excitabilidade cortical foi avaliada por meio das amplitudes de PEM no estado basal (antes do tbUFBI), em 5 minutos ('T5'), T30 e T60 após o tbUFBI. O teste de Wilcoxon mostrou diferença entre as condições Ativo vs. Placebo para o grupo DP-ON ( $p=0,03$ ), mas não para DP-OFF ou controles. O modelo linear de efeitos mistos (LME) para DP-ON vs. controles mostrou efeito do UFBI ( $p=0,048$ ), sem efeito de grupo ou da interação UFBI x grupo. O LME para DP-OFF vs. controles e LME para DP-ON vs. DP-OFF não mostraram efeito significativo de UFBI, grupo ou interação. Para os efeitos *offline*, a comparação entre o PEM basal e T5, T30 e T60 usando o teste de Wilcoxon mostrou diferença para T30 nos controles ( $p=0,02$ ) e DP-ON ( $p=0,042$ ), mas não nos DP-OFF. LEM das amplitudes de PEM após a sonicação, comparando controles com DP-ON, mostrou efeito do tempo ( $p=0,002$ ), mas nenhum efeito do grupo ou interação (grupo x tempo). Ao comparar controles com DP-OFF, houve efeito do grupo ( $p=0,03$ ), do tempo ( $p=0,03$ ) e da interação ( $p=0,02$ ). Ao comparar DP-ON com DP-OFF, houve um efeito do grupo ( $p=0,03$ ), sem efeito do tempo ou da interação. O LME para DP-*denovo* vs. DP-OFF mostrou um efeito significativo da interação tempo x grupo ( $p=0,03$ ). A análise post hoc de Mann-Whitney U mostrou diferença comparando DP-*denovo* T30-PEM e DP-OFF T30-PEM ( $p=0,04$ ). Houve uma diferença significativa na pontuação de bradicinesia do mUPDRS entre o estado basal e o T60 em DP-ON ( $p=0,05$ ) e em DP-*denovo* ( $p=0,04$ ), mas não em DP-OFF. A pontuação total e as outras subpontuações tremor e axial não apresentaram diferenças ao comparar o estado basal com o T60 em DP-ON, *denovo* ou OFF. O UFBI *online* reduziu a excitabilidade cortical em DP-ON, mas não em controles ou DP-OFF. O tbUFBI induziu plasticidade cortical motora em controles e DP-*denovo*, mas não em pacientes com DP-OFF. No entanto, a plasticidade foi restaurada nos pacientes DP-ON. Os pacientes DP-ON e *denovo* apresentaram melhora da bradicinesia, destacando um potencial efeito sintomático do tbUFBI.

Palavras-chave: Doença de Parkinson; neuromodulação; ultrassom focal de baixa intensidade; excitabilidade cerebral; plasticidade cerebral.

## ABSTRACT

Transcranial low-intensity focused ultrasound (tFUS) is a novel non-invasive brain stimulation technique with high spatial resolution. tFUS can transiently reduce cortical excitability during sonication (online effect). In theta burst mode (tbFUS), tFUS induces an increase in cortical excitability lasting up to 30 minutes (offline effect), possibly due to a plasticity effect similar to long-term potentiation (LTP). As Parkinson's disease (PD) is known to be associated with altered cortical excitability and plasticity, our goal was to evaluate the clinical and neurophysiological effects of tFUS applied to the primary motor cortex (M1) in PD patients. Twenty PD patients were evaluated (4 females, average age  $59.1 \pm 8.7$  years) both in the 'ON' and 'OFF' states of dopaminergic medication, along with 17 healthy controls (5 females,  $63.7 \pm 9.2$  years). Additionally, 7 newly diagnosed PD patients (PD - *denovo*) were tested (3 females,  $66.4 \pm 8.7$  years). The online protocol involved sonication of M1 with intensities of  $20 \text{ W/cm}^2$  (active) and  $0 \text{ W/cm}^2$  (placebo), with simultaneous measurements of motor-evoked potentials (MEPs) by transcranial magnetic stimulation (TMS). The offline protocol consisted of 80 seconds of tbFUS on M1 with an intensity of  $20 \text{ W/cm}^2$ . Cortical excitability was assessed through MEP amplitudes at baseline (before tbFUS), at 5 minutes ('T5'), T30, and T60 after tbFUS. Wilcoxon's test showed a difference between Active vs. Placebo conditions for the PD-ON group ( $p=0.03$ ), but not for PD-OFF or controls. The linear mixed-effects (LME) model for PD-ON vs. controls showed a UFBI effect ( $p=0.048$ ), without a group or UFBI x group interaction effect. LME for PD-OFF vs. controls and LME for PD-ON vs. PD-OFF did not show a significant UFBI, group, or interaction effect. For offline effects, the Wilcoxon test comparing baseline MEP with T5, T30, and T60 showed a difference at T30 in controls ( $p=0.02$ ) and PD-ON ( $p=0.042$ ), but not in PD-OFF. LME of MEP amplitudes after sonication, comparing controls with PD-ON, showed a time effect ( $p=0.002$ ), but no group or interaction effect (group x time). Comparing controls with PD-OFF, there was a group effect ( $p=0.03$ ), a time effect ( $p=0.03$ ), and an interaction effect ( $p=0.02$ ). Comparing PD-ON with PD-OFF, there was a group effect ( $p=0.03$ ), with no time or interaction effect. The LME for PD-de novo vs. PD-OFF showed a significant time x group interaction effect ( $p=0.03$ ). Post hoc Mann-Whitney U analysis showed a difference comparing PD-de novo T30-MEP and PD-OFF T30-MEP ( $p=0.04$ ). There was a significant difference in the bradykinesia score of the mUPDRS between baseline and T60 in PD-ON ( $p=0.05$ ) and in PD-de novo ( $p=0.04$ ), but not in PD-OFF. The total score and other tremor and axial sub-scores showed no differences when comparing baseline with T60 in PD-ON, de novo, or OFF. Online tFUS reduced cortical excitability in PD-ON, but not in controls or PD-OFF. tbFUS induced motor cortical plasticity in controls and PD-*denovo*, but not in PD-OFF patients. However, plasticity was restored in PD-ON patients. PD-ON and *denovo* patients showed improvement in bradykinesia, highlighting a potential symptomatic effect of tbFUS.

Keywords: Parkinson's disease; neuromodulation; low-intensity focal ultrasound; brain excitability; brain plasticity.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Sintomas clínicos e evolução temporal progressiva da DP. DCREM: Distúrbio comportamental do sono REM; DCL: Declínio cognitivo leve; SED: Sonolência excessiva diurna. Adaptado de: Kalia et al. 2015 ..... 24
- Figura 2. Processos celulares descritos na patogênese da DP. Adaptado: Kalia et al. 2015 ..... 24
- Figura 3. Representação do EMT de pulso pareado. (A) Estímulo de teste isolado (seta azul) gerou um PEM com amplitude de 1mV. (B) SICl: um estímulo subliminar (seta vermelha) entregue 2ms antes do estímulo de teste (seta azul) reduziu a amplitude do PEM. (C) ICF: um estímulo subliminar (seta vermelha) entregue 10ms antes do estímulo de teste (seta azul) aumentou a amplitude do PEM. (D) SICF: um estímulo supraliminar (seta azul) entregue 1,4ms antes do estímulo limiar (seta verde) aumentou a amplitude do PEM. Adaptado de Udupa e Chen 2019..... 26
- Figura 4. Modelo de transmissão sináptica em sinapses excitatórias. Durante a transmissão sináptica basal (painel esquerdo), o glutamato liberado se liga tanto aos receptores NMDA quanto aos AMPA. O íon Na<sup>+</sup> flui através do canal AMPA, mas não através do canal NMDA devido ao bloqueio de Mg<sup>2+</sup> desse canal. A despolarização da célula pós-sináptica (à direita) remove o bloqueio de Mg<sup>2+</sup> do canal NMDA e permite que tanto Na<sup>+</sup> quanto Ca<sup>2+</sup> fluam para dentro do terminal dendrítico. O aumento resultante de Ca<sup>2+</sup> é necessário para facilitar as despolarizações subsequentes que impulsionam a plasticidade sináptica. Adaptado de Citri & Malenka, 2008..... 29
- Figura 5. Representação de protocolos de indução de plasticidade com uso de EMT repetitivo e *thetaburst*. EMT: Estimulação magnética transcraniana; cTBS: estimulação *thetaburst* contínua; iTBS: Estimulação *thetaburst* intermitente. Adaptado de Kricheldorff et al. 2022..... 30
- Figura 6. Representação de protocolos de indução de plasticidade com uso de estimulação associativa em pares. PAS: Estimulação associativa em pares. Retirado de Snow, 2015 ..... 31
- Figura 7. Visualização de parâmetros de ultrassom que podem ser personalizados para alterar os efeitos esperados. T:Ciclo. Adaptado de Fomenko et al., 2018. .... 34
- Figura 8. A: Perfil de pressão acústica do transdutor de 500 kHz sonificando contra o couro cabeludo do participante na localização determinada pela neuronavegação.

Pode-se observar um foco em formato de cigarro dentro do cérebro, além de um artefato proveniente da face não ativa do transdutor. B: Perfil de pressão abaixo do transdutor sobreposto à ressonância magnética T1 do participante (apenas o hemisfério esquerdo mostrado), com a superfície cortical do córtex motor primário mostrada por uma linha pontilhada. Áreas fora do foco acústico foram cortadas. Adaptado de Fomenko et al. 2020 .....	37
Figura 9. Resumo dos estudos com Ultrassom focal transcraniano de baixa intensidade. DC: Ciclo de trabalho; PRF: Frequência de repetição de pulso; SD: Duração da emissão do ultrassom. Extraído de Sarica et al., 2022 .....	37
Figura 10. Mecanismos de ação propostos para o UFBI. (A) A cavitação acústica provoca a formação de bolhas dentro da membrana neuronal, resultando em mudanças de capacitância ou quebra da membrana celular. (B) Os canais lipídicos sequestram enzimas ancoradas à membrana intracelular e limitam as interações com substratos ligados à membrana. (C) Aumento de temperatura ou (D) força mecânica aplicada à membrana interrompe os canais lipídicos, resultando na translocação da enzima e no aumento das reações enzimáticas do substrato. As moléculas emergentes alteram a abertura de canais iônicos mecanossensíveis. Embora os canais iônicos possam ser sensíveis tanto à temperatura quanto à mecânica, diferentes canais mostrados em (C) e (D) enfatizam que eles podem ter sensibilidades diferentes à temperatura ou à força mecânica. Adaptado de Darmani et al., 2022 .....	38
Figura 11. (A) Parâmetros acústicos da estimulação por UFBI que foram avaliados nos experimentos realizados por Fomenko et al. incluem diferentes durações de sonicação, frequências de repetição de pulsos e porcentagens de ciclo de trabalho. A frequência fundamental foi mantida constante em 500 kHz. (B) Durante a estimulação por EMT e UFBI variou-se o parâmetro de duração da sonicação. Diferentes durações (0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 segundos) da condição UFBI ativo foram randomizadas com a condição de UFBI placebo. O pulso único de EMT ocorreu 10 ms antes do final da sonicação. Foi utilizado um intervalo de estímulo de 5 segundos entre cada época de estimulação. Extraído de Fomenko et al. 2020. Cycle: ciclo; Duty cycle: Ciclo de trabalho; PRF: Frequência de repetição de pulso; Sonication duration: Duração da emissão do ultrassom; Sham: Placebo; TUS: UFBI. Extraído de Fomenko et al., 2020 .....	40

Figura 12. Diagramas mostrando como um transdutor de UFBI de 2 canais acoplado a uma bobina de EMT para modular o M1 no estudo de Fomenko et al. (2020) e Xia et al. (2021). A) Um suporte personalizado com espessura de 10 mm é usado para segurar o transdutor logo abaixo da bobina de EMT em forma de oito, com uma película de hidrogel usada para acoplar o transdutor ao couro cabeludo. B) Fotografia de i) transdutor de UFBI de 2 canais, ii) suporte personalizado impresso em 3D para UFBI-EMT e iii) bobina de EMT em forma de oito de 70 mm. Adaptado de Fomenko et al., 2020. Corticospinal tract: Trato corticoespinal; US Transducer: Transdutor de ultrassom; Hydrogel Pad: película de hidrogel; Skull: crânio. .... 41

Figura 13. *Thetaburst* UFBI (tbUFBI) consiste em um trem de pulso de 80 segundos com pulsos de ultrassom de 20 milissegundos (0,5 MHz) repetidos a cada 200 milissegundos (400 pulsos). Extraído de Zeng et al. 2021. TBD: duração do *thetaburst*; PRF: Frequência de repetição de pulso; tbTUS: tbUFBI; SD: Duração da emissão do ultrassom. .... 43

Figura 14. Amplitudes dos PEMS normalizadas em relação à linha de base após a aplicação de tbUFBI em vermelho ("tbTUS"), em azul a estimulação repetitiva controle ("rTUS") e a estimulação placebo inativa ("sham") em preto. Até 30 minutos após a aplicação de tbUFBI sobre M1, as amplitudes dos PEMS são significativamente maiores do que a linha de base. Adaptado de Zeng et al., 2021. Ratio to pre-TUS MEP: Razão para o PEM preUFBI; MEP amplitudes: Amplitudes dos PEMS. Pre: linha de base; T5: 5 minutos; T30: 30 minutos T60: 60 minutos. .... 44

Figura 15. A: Diagrama esquemático dos parâmetros de rUFBI utilizados. B: A intervenção de rUFBI ativo, mas não a intervenção de rUFBI placebo, resulta na potenciação de PEMS por até 30 minutos. Adaptado de Zhang et al., 2021. SD: Duração da sonicação; ISI: Intervalo interestímulo; rTUS: rUFBI; TBD: Duração do burst..... 45

Figura 16. Foto do tanque de água com capsula de hidrofone a esquerda e transdutor do UFBI a direita..... 53

Figura 17. Perfil de intensidade acústica do transdutor de 0,5 MHz com foco de 30 mm medido em água livre. (A) Mapa longitudinal. (B) Seção transversal do feixe acústico no plano focal. Fonte: Elaborado pelo autor..... 54

Figura 18. Representação esquemática do protocolo *online* ativo. %MSO: Porcentagem de estimulação máxima ; EMT: Estimulação magnética transcraniana; PEM: Potencial evocado motor; RMT: limiar motor em repouso; SICl: Inibição

intracortical de curta duração ; SICF: Facilitação intracortical de curta duração; UFBI Ultrassom focal transcraniano de baixa intensidade; Fonte: Elaborada pelo autor... 56

Figura 19. O UFBI ativo ou placebo na topografia de M1 em hemisfério esquerdo em simultâneo com um estímulo auditivo. Os estímulos auditivos foram emitidos em 1 e 12 kHz, com durações de 500 ou 700 ms. A estimulação com UFBI teve duração de 500 ms. O pulso único de EMT foi aplicado em M1 100 ms antes do final do UFBI (ou seja, após 490 ms de UFBI), e na mesma temporização na condição UFBI placebo Fonte: Elaborada pelo autor..... 58

Figura 20. Representação esquemática do protocolo de ultrassom transcraniano *offline*. %MSO: Porcentagem de estimulação máxima; EMT: Estimulação magnética transcraniana; PEM: Potencial evocado motor; RMT: limiar motor em repouso; SICl: Inibição intracortical de curta duração ; SICF: Facilitação intracortical de curta duração; UFBI Ultrassom focal transcraniano de baixa intensidade; Fonte: Elaborada pelo autor..... 59

Figura 21. Efeitos do UFBI online na amplitude de PEM em pacientes DP-ON, controles e DP-OFF. Dados de 8 pacientes DP-ON, 8 pacientes DP-OFF e 12 controles. O UFBI online no córtex motor reduziu a excitabilidade do córtex motor medida pela amplitude de PEM evocada por EMT de pulso único com UFBI 20W em comparação ao UFBI 0W no grupo DP-ON. As barras de erro representam o erro padrão. O asterisco representa diferença significativa entre 0W e 20W no grupo DP-ON..... 67

Figura 22. Efeitos do UFBI online na SICl, SICF 1.4 e SICF 2.2 em pacientes DP-ON, controles e DP-OFF. Dados de 8 pacientes DP-ON, 8 pacientes DP-OFF e 12 controles. DP-ON. As barras de erro representam o erro padrão. O asterisco representa diferença significativa entre 0W e 20W no grupo DP-ON..... 68

Figura 23. Intensidade utilizada pelo EMT em % para gerar um PEM de 1mV (SI1mV) no estado inicial de referência e durante as quatro condições de estimulação sonora. Cada condição simulada de som exigiu uma intensidade de estímulo significativamente maior do que a linha de base para evocar um PEM de 1 mV. O asterisco representa  $p < 0,05$ . As barras horizontais extremas representam os limites superior e inferior dos dados, as extremidades da caixa representam o percentil 75 (superior) e 25 (inferior). A linha central representa o valor da mediana. .... 69

Figura 24. Efeito significativo da duração do estímulo auditivo com maior redução da amplitude do PEM com estímulos com duração de 500ms em comparação ao de duração de 700ms. As barras de erro representam o erro padrão. Asterisco representa $p < 0,05$ .....	70
Figura 25. Efeito significativo da frequência do estímulo auditivo com maior redução da amplitude do PEM com estímulos com frequência de 1kHz em comparação ao de 12kHz, sem efeito significativo da duração ou entre o uso de UFBI ativo ou placebo. Barras de erro representam erro padrão .....	70
Figura 26. Efeitos do UFBI <i>thetaburst</i> na amplitude do PEM em pacientes DP-OFF, DP-ON e controles saudáveis. Dados de 20 pacientes DP-ON, 19 pacientes DP-OFF e 17 controles. O tbUFBI aplicado no córtex motor aumentou a excitabilidade medida pela amplitude de PEM evocada por EMT de pulso único após 30 minutos de sonicação, demonstrando que o efeito de plasticidade do tbUFBI é preservado em controles saudáveis mais velhos e pacientes DP-ON. as barras de erro representam o erro padrão. Os asteriscos representam diferença significativa entre DP-OFF e controles em T30, e os símbolos de hashtag representam diferença significativa entre a linha de base e T30 para DP-ON e controles.....	74
Figura 27. Efeitos do UFBI <i>thetaburst</i> na amplitude de PEM em pacientes com DP-OFF, DP-ON com e sem LID. Dados de 13 pacientes DP-ND-ON, 7 pacientes DP-D-ON, 13 pacientes DP-ND-OFF e 6 pacientes DP-OFF. As barras de erro representam o erro padrão .....	75
Figura 28. Efeitos do UFBI <i>thetaburst</i> em SIC1 e SICF 1,4 e 2,2. Os valores são representados como a razão das amplitudes de PEM condicionadas para as amplitudes de PEM não condicionadas do estímulo único do TS. Portanto, razões mais altas para a SIC1 representam menos inibição, e razões mais altas para a SICF representam maior facilitação. As barras de erro representam o erro padrão. ....	76
Figura 29. Média das pontuações e subpontuações de mUPDRS. Valores basais e após 60 minutos da aplicação do protocolo <i>thetaburst</i> UFBI no córtex motor em pacientes com DP. Dados de 20 pacientes com DP no estado ON e 19 pacientes no estado OFF. A aplicação de UFBI <i>thetaburst</i> no córtex motor reduziu as subpontuações de bradicinesia do mUPDRS aos 60 minutos após a sonicação. As barras de erro representam o erro padrão.....	77
Figura 30. A relação entre a pontuação basal do mUPDRS e a razão PEM 30 minutos após tbUFBI foi avaliada com o teste de correlação de Spearman. Cada	

ponto representa a medida média de um paciente. Os dados são de 20 pacientes com doença de Parkinson (DP) em estado ON (DP-ON) e 19 pacientes em estado OFF (DP-OFF). Os subgrupos incluem DP-ON, DP-D-ON (n=7) e DP-ND-ON..... 79

Figura 31. A relação entre a pontuação basal do Hoehn e Yahr e a razão PEM 30 minutos após tbUFBI foi avaliada com o teste de correlação de Spearman. Cada ponto representa a medida média de um paciente. Os dados são de 20 pacientes com doença de Parkinson (DP) em estado ON (DP-ON) e 19 pacientes em estado OFF (DP-OFF). Os subgrupos incluem DP-ON, DP-D-ON (n=7) e DP-ND-ON..... 80

Figura 32. Efeitos do UFBI *thetaburst* na amplitude do PEM em pacientes DP-OFF e DP- *denovo*. Dados 15 pacientes DP-OFF e 7 pacientes DP-*denovo*. As barras de erro representam o erro padrão. Os asteriscos representam diferença significativa entre DP-OFF e DP-*denovo* em T30. .... 82

Figura 33. Efeitos do UFBI *thetaburst* em SICI e SICF 1,4 e 2,2. Os valores são representados como a razão das amplitudes de PEM condicionadas para as amplitudes de PEM não condicionadas do estímulo único do TS. Portanto, razões mais altas para a SICI representam menos inibição, e razões mais altas para a SICF representam maior facilitação. As barras de erro representam o erro padrão. Asterisco representa  $p < 0,05$  entre linha basal e T5, linha basal e T30 no gráfico de SICI. .... 83

Figura 34. Média das pontuações e subpontuações de mUPDRS. Valores basais e após 60 minutos da aplicação do protocolo *thetaburst* UFBI no córtex motor em pacientes com DP *denovo*. Dados de 7 pacientes. A aplicação de UFBI *thetaburst* no córtex motor reduziu as subpontuações de bradicinesia do mUPDRS aos 60 minutos após a sonicação. As barras de erro representam o erro padrão. .... 84

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Medidas de EMT de pulso simples e pulso pareado em pacientes com DP .....	28
Tabela 2. Resumo dos estudos que avaliaram neuroplasticidade em pacientes com DP .....	31
Tabela 3. Protocolo Neurofisiológico .....	52
Tabela 4. Características clínicas dos pacientes com DP estudados. ....	65
Tabela 5. Limiar motor em repouso (RMT) e intensidade do estímulo para produzir PEM de 1 mV (SI1mV).....	66
Tabela 6. Características clínicas dos pacientes com DP estudados. ....	72
Tabela 7. Limiar motor em repouso (RMT) e intensidade do estímulo para produzir PEM de 1 mV (SI1mV).....	73
Tabela 8. Características clínicas dos pacientes com DP <i>denovo</i> estudados.....	81

## LISTA DE SÍMBOLOS, NOMENCLATURAS E ABREVIATURAS

AMPA - Alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico

CBI - Cerebellar Inhibition (Inibição Cerebelar)

DC - Ciclo de trabalho

DP – Doença de Parkinson

DCREM - Distúrbio Comportamental do Sono REM

DCL - Declínio Cognitivo Leve

EMT - Estimulação Magnética Transcraniana

FDA - Food and Drug Administration (Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos)

FDI - Músculo primeiro interósseo dorsal

GABAA - Gamma-Aminobutyric Acid Type A (Ácido Gama-Aminobutírico Tipo A)

IHI - Inibição Inter-hemisférica

ISI - Inter-Stimulus Interval (Intervalo entre Estímulos)

ISPPA - spatial-peak and pulse-average intensity (Intensidade espacial-pico-média de pulso)

ISPTA - spatial peak temporal average intensity (Intensidade espacial-pico-média no tempo)

kHz - Kilohertz (Quilohertz)

LID - Levodopa-induced Dyskinesias (Discinesias Induzidas por Levodopa)

LME - Modelo linear de efeitos mistos

LTP - Long-Term Potentiation (Potenciação de Longo Prazo)

LTD - Long-Term Depression (Depressão de Longo Prazo)

M1 - Córtex Motor Primário

mUPDRS - Escala Unificada de Avaliação da DP da Sociedade Internacional de Parkinson e distúrbios do movimento (subseção de sintomas motores)

NMDA - N-Metil-D-Aspartato

PAS - Paired Associative Stimulation (Estimulação Associativa Pareada)

PES - Potencial evocado somatossensorial

PRF – Pulse Repetition Frequency (Frequência de repetição de pulso)

RMT – Rest Motor Threshold (Limiar motor em repouso)

s - Segundos

S1 - Córtex somatossensorial primário

SED - Sonolência Excessiva Diurna

SI1mV – Intensidade de estimulação para produzir PEM de 1mV

SICF – Short intracortical facilitation (Facilitação intracortical de curta duração)

SICI – Short intracortical inhibition (Inibição intracortical de curta duração)

tbUFBI - Estimulação Ultrassônica Focal do Cérebro com Padrão Thetaburst

tDCS - Estimulação transcraniana por corrente contínua

RM - Ressonância Magnética

UFBI - Ultrassom Focal de Baixa intensidade

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	23
1.1	DOENÇA DE PARKINSON.....	23
1.1.1	DEFINIÇÃO E ASPECTOS CLÍNICOS.....	23
1.1.2	EXCITABILIDADE CORTICAL.....	25
1.1.3	EXCITABILIDADE CORTICAL NA DOENÇA DE PARKINSON.....	27
1.1.4	PLASTICIDADE CEREBRAL.....	28
1.1.5	PLASTICIDADE CEREBRAL NA DOENÇA DE PARKINSON.....	31
1.2	ULTRASSOM.....	33
1.2.1	PROPRIEDADES DO ULTRASSOM.....	33
1.3	ULTRASSOM FOCAL TRANSCRANIANO.....	35
1.3.1	ULTRASSOM FOCAL TRANSCRANIANO DE BAIXA INTENSIDADE.....	38
2	JUSTIFICATIVA.....	46
2.1	Hipótese.....	47
3	OBJETIVOS.....	48
3.1	Geral.....	48
3.2	Específicos.....	48
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
4.1	DESENHO DO ESTUDO OU DELINEAMENTO.....	49
4.2	SUJEITOS DA PESQUISA.....	49
4.2.1	Critérios de inclusão grupo DP:.....	49
4.2.2	Critérios de inclusão grupo controle:.....	49
4.2.3	Critérios de exclusão:.....	50
4.3	PROTOCOLO.....	51
4.3.1	ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA.....	51
4.3.2	CARACTERIZAÇÃO DO ULTRASSOM.....	52
4.4	EXPERIMENTO <i>ONLINE</i> I.....	54
4.4.1	PROTOCOLO DE USO ULTRASSOM.....	55
4.4.2	ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA.....	56
4.5	EXPERIMENTO <i>ONLINE</i> II.....	56
4.6	EXPERIMENTO <i>OFFLINE</i> .....	59
4.6.1	PROTOCOLO DO ULTRASSOM.....	59

4.6.2	ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA .....	60
4.7	ANÁLISE DOS DADOS .....	61
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	61
4.8.1	ONLINE .....	62
4.8.2	OFFLINE .....	63
5	RESULTADOS .....	65
5.1	ESTUDO ONLINE .....	65
5.1.1	EXPERIMENTO <i>ONLINE</i> I .....	65
5.1.2	EXPERIMENTO <i>ONLINE</i> II .....	68
5.2	ESTUDO OFFLINE .....	71
5.2.1	EXPERIMENTO OFFLINE I .....	71
5.2.2	EXPERIMENTO OFFLINE II .....	81
6	DISCUSSÃO .....	85
6.1	PROTOCOLO <i>ONLINE</i> .....	85
6.1.1	EXCITABILIDADE CORTICAL E MECANISMOS DO UFBI <i>ONLINE</i> ..	86
6.1.2	EXCITABILIDADE CORTICAL E UFBI <i>ONLINE</i> NA DOENÇA DE PARKINSON .....	88
6.1.3	ESTÍMULO SONORO COMO POSSÍVEL FATOR CONFUNDIDOR ..	90
6.1.4	EFEITO DO STÍMULO SONORO NO MODULAÇÃO CORTICAL .....	91
6.2	PROTOCOLO <i>OFFLINE</i> .....	92
6.2.1	UFBI <i>THETABURST</i> E A PLASTICIDADE CORTICAL MOTORA NA DP 94	
6.2.2	EFEITOS DO UFBI <i>THETABURST</i> NA RMT, SI1MV .....	96
6.2.3	EFEITOS DO UFBI <i>THETABURST</i> NA SICI E SICF .....	96
6.2.4	EFEITOS CLÍNICOS DO UFBI <i>THETABURST</i> NOS SINAIS MOTORES DE DP .....	98
6.2.5	INFLUÊNCIA DA GRAVIDADE DA DOENÇA DE PARKINSON NOS EFEITOS UFBI <i>THETABURST</i> .....	99
6.3	LIMITAÇÕES DO ESTUDO .....	99
7	CONCLUSÕES .....	101
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	102
9	ANEXOS .....	128
9.1	PRODUÇÃO CIENTÍFICA .....	128
9.2	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .....	129

9.3	FORMULÁRIO PARA AVALIAÇÃO DE ELIGIBILIDADE DOS PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON .....	144
9.4	FORMULÁRIO PARA COLETA DE DADOS CLÍNICOS DOS PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON .....	146
9.5	ARTIGO SUBMETIDO EM REVISÃO .....	155

## 1 INTRODUÇÃO

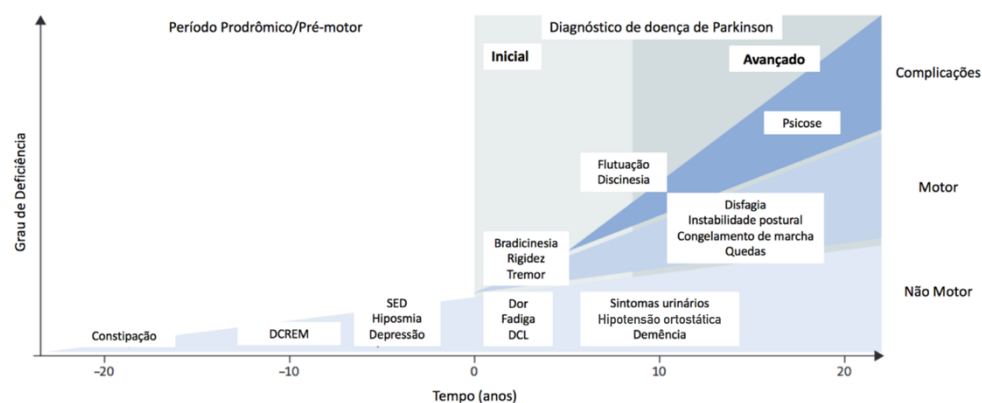
### 1.1 DOENÇA DE PARKINSON

#### 1.1.1 DEFINIÇÃO E ASPECTOS CLÍNICOS

A Doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais prevalente no mundo. A sua incidência é estimada em 17 por 100.000 pessoas por ano (Hirsch et al., 2016). De 1990 a 2015, o número de indivíduos com DP no mundo dobrou, sendo estimado em cerca de 6 milhões de pessoas. Projeções feitas para o ano de 2040 sugerem que, impulsionado pelo envelhecimento da população, esse número deve novamente dobrar, chegando a 12 milhões de pessoas (Dorsey et al., 2018). No Brasil, existem poucos estudos que avaliam prevalência da doença, o mais recente realizado em Bambuí, mostrou uma prevalência estimada de 3,3% em pessoas com 64 ou mais anos (Barbosa et al., 2006).

Os sintomas motores mais comuns da DP incluem bradicinesia associada a tremor de repouso e rigidez (Postuma et al., 2015b). Contudo, o espectro clínico da doença contém também sintomas não-motores que podem se manifestar antes ou após a instalação dos motores. Entre os sintomas não motores estão depressão, transtorno comportamental do sono REM, constipação, hiposmia e declínio cognitivo, como ilustrado na

Figura 1 (Armstrong & Okun, 2020). Essas manifestações clínicas podem ocorrer de maneira bastante heterogênea em cada paciente com evolução também



diferenciada, o que suporta o conceito atual de que existem diversos subtipos de DP (De Pablo-Fernández et al., 2018).

Figura 1. Sintomas clínicos e evolução temporal progressiva da DP. DCREM: Distúrbio comportamental do sono REM; DCL: Declínio cognitivo leve; SED: Sonolência excessiva diurna. Adaptado de: Kalia et al. 2015

A etiologia da DP ainda é desconhecida na maioria dos casos. Alterações genéticas monogênicas são a causa em cerca de 3-5% dos casos (Bloem et al., 2021). Alguns fatores de risco como presença de tremor, constipação já foram identificados, mas sem apontar para uma etiologia específica (Noyce et al., 2012). As vias fisiopatológicas já elucidadas representam uma interação complexa entre agregação aberrante de  $\alpha$ -sinucleína, disfunção de mitocôndrias, lisossomos ou transporte de vesículas, problemas de transporte sináptico e neuroinflamação (Figura 2) (Kalia et al., 2015).

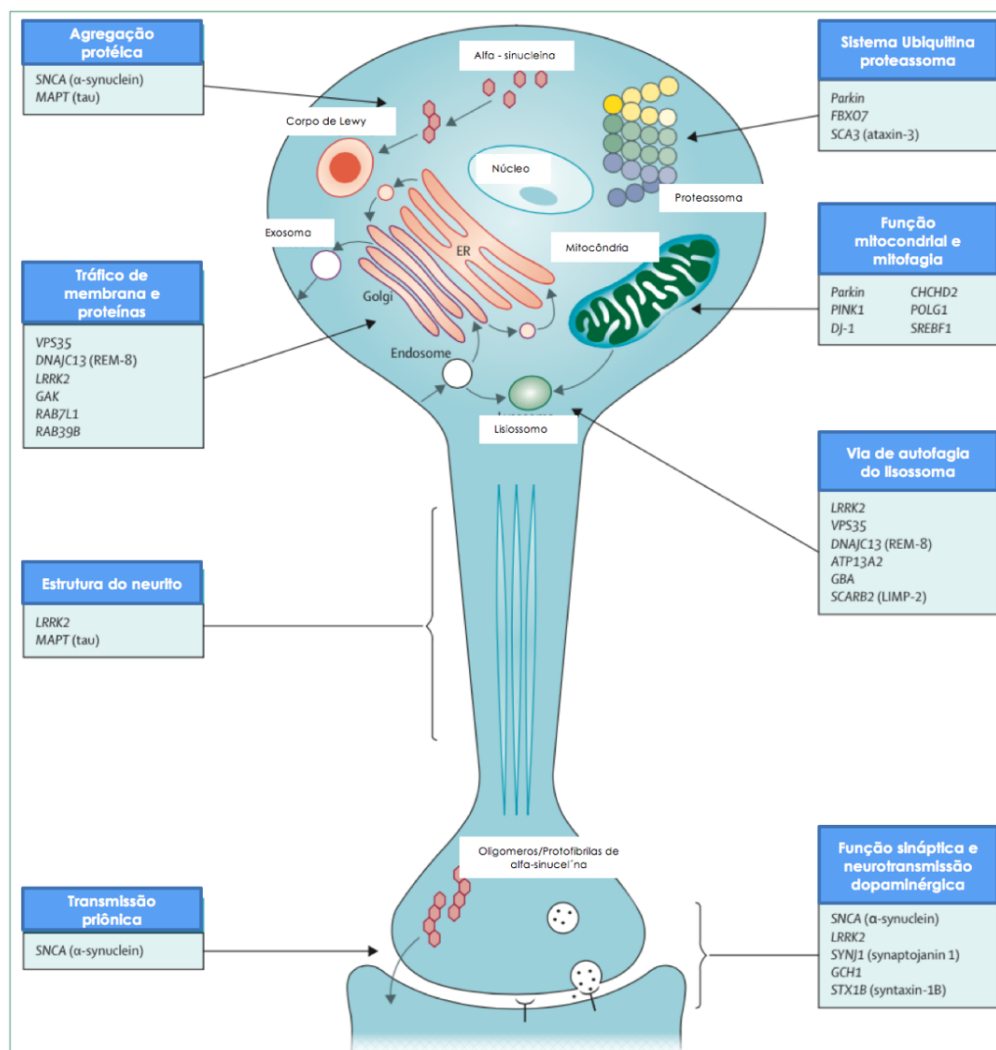


Figura 2. Processos celulares descritos na patogênese da DP. Adaptado: Kalia et al. 2015

No que tange a fisiopatologia da doença de Parkinson, a doença é primariamente definida pela degeneração dopaminérgica de neurônios com projeção nigroestriatal (Kordower et al., 2013). Essa alteração está associada com modificações importantes nas conexões motoras dos gânglios da base, levando a um eferência motor disfuncional (Braak & Del Tredici, 2008; Obeso et al., 2008). As alterações motoras resultantes que se manifestam como sintomas na DP estão correlacionadas com mudanças na atividade do córtex motor em modelos animais de DP (Guo et al., 2015; Hyland et al., 2019) bem como em pacientes com DP (Ammann et al., 2020; Lefaucheur, 2005).

A atividade cortical motora pode ser descrita a partir da avaliação da excitabilidade cortical com métodos não invasivos como a EMT. Um regulador chave da atividade motora cortical é o equilíbrio entre excitação e inibição, que pode ser avaliado com uso de protocolos específicos de EMT (Chen, 2004). Apesar de décadas de investigação, ainda não está o mecanismo que leva a hiperexcitabilidade cortical encontrada na DP, os principais achados referentes a esse tópico serão descritos a seguir.

### **1.1.2 EXCITABILIDADE CORTICAL**

A EMT pode ser usada para avaliar a excitabilidade cortical e testar circuitos cerebrais, especialmente por meio da mensuração dos potenciais motores evocados (PEM). Ao induzir uma corrente elétrica na representação do córtex motor primário (M1) de um músculo específico, a eletromiografia (EMG) pode ser usada para registrar a atividade muscular evocada pela ativação do M1, transmitida através do trato corticoespinal (Badawy et al., 2012; Hallett, 2007). A amplitude do PEM é um indicador da excitabilidade cortical e espinal, bem como da integridade dos caminhos corticoespinais (Figura 3). Assim, no córtex motor, o estímulo necessário para produzir um PEM típico reflete a excitabilidade/condução global de interneurônios corticais, vias corticoespinhais rápidas, bem como motoneurônios espinhais (Cracco et al., 1999).

O limiar motor em repouso (RMT) está fisiologicamente relacionado à excitabilidade da membrana, especialmente em relação aos canais de sódio (Badawy et al., 2012). Ele se refere à intensidade da EMT necessária para evocar uma resposta de PEM de 50 microvolts em 5 de 10 tentativas de pulso único. Paradigmas de EMT em pares podem ser usados para avaliar circuitos intracorticais no M1. Geralmente, eles envolvem um estímulo condicionante (CS) seguido por um estímulo de teste (TS) em uma variedade de intervalos interestímulo (IIE), como representado na Figura 3.

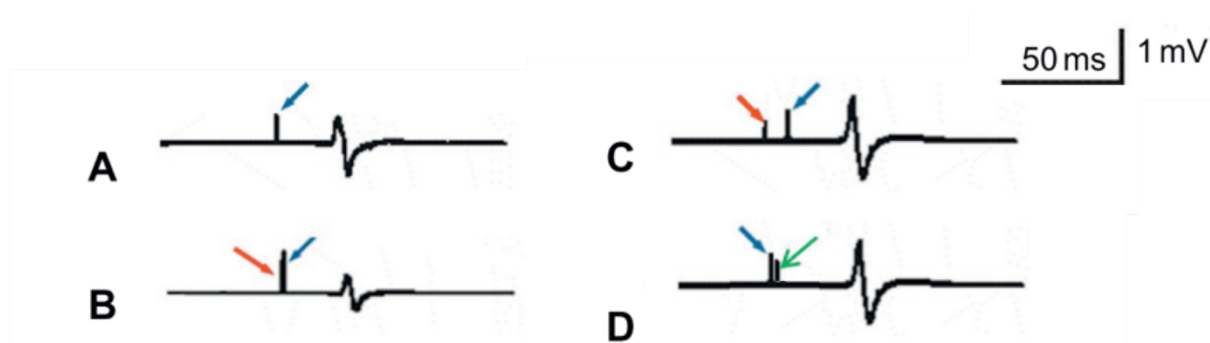


Figura 3. Representação do EMT de pulso pareado. (A) Estímulo de teste isolado (seta azul) gerou um PEM com amplitude de 1mV. (B) SICI: um estímulo subliminar (seta vermelha) entregue 2ms antes do estímulo de teste (seta azul) reduziu a amplitude do PEM. (C) ICF: um estímulo subliminar (seta vermelha) entregue 10ms antes do estímulo de teste (seta azul) aumentou a amplitude do PEM. (D) SICF: um estímulo supraliminar (seta azul) entregue 1,4ms antes do estímulo limiar (seta verde) aumentou a amplitude do PEM. Adaptado de Udupa e Chen 2019.

A inibição intracortical de intervalo curto (SICI) é uma medida em pares que avalia a inibição nos circuitos cerebrais (Kujirai et al., 1993). Os processos fisiológicos subjacentes ao SICI ainda não estão completamente resolvidos, embora circuitos corticais de interneurônios inibitórios, atuando através de receptores GABAA, e projetando-se em tratos de saída piramidais, contribuam para o desenvolvimento do SICI (Higashihara et al., 2020; Ni & Chen, 2008). A facilitação intracortical de intervalo curto (SICF) é um paradigma de pulso pareado de EMT que mede a excitação cortical (Higashihara et al., 2020). O mecanismo da SICF é proposto como sendo por meio da soma dos efeitos do primeiro e segundo estímulos no segmento inicial do axônio de interneurônios corticais que geram ondas indiretas (I) (Ilić et al., 2002).

### 1.1.3 EXCITABILIDADE CORTICAL NA DOENÇA DE PARKINSON

Na DP, o envolvimento dos núcleos basais e as alterações nas projeções talamocorticais levam a uma fisiologia cortical anormal (Udupa & Chen, 2019a). Estudos anteriores de EMT mostraram que a excitabilidade cortical e a plasticidade cortical estão comprometidas em pacientes com parkinsonismo (Ni et al., 2013a) e sintomas motores como bradicinesia estão relacionados a alterações na excitabilidade do córtex motor (Bologna et al., 2018, 2020). Paradigmas de EMT de pulso pareado usados para testar os circuitos inibitórios e excitatórios corticais mostram um aumento da excitabilidade cortical em DP (Tabela 1).

A SICI é considerada uma medida de inibição cortical mediada pelos receptores GABAA (Ziemann, 2004b) e está diminuída no parkinsonismo, mesmo quando mensurada no hemisfério cerebral assintomático (Ammann et al., 2021). A facilitação intracortical de intervalo curto (SICF) está aumentada no parkinsonismo, e se normaliza após o uso de medicação dopaminérgica. (Ni et al., 2013a; Udupa & Chen, 2019a). As alterações na SICI e SICF são secundárias a um comprometimento nos circuitos inibitórios corticais e estão correlacionadas aos sintomas motores do parkinsonismo (Ammann et al., 2021; Ni et al., 2013a).

Outras medidas avaliadas pelo EMT de pulso único ou pareado corroboram a teoria de hiperexcitabilidade cortical nesses pacientes. O período silente se refere à pausa na atividade voluntária contínua do EMG após o PEM, essa pausa está reduzida na DP ao se comparar com controles quando se estimula o córtex ipsi ou contralateral ao músculo examinado com EMG, com restauração após uso de medicação dopaminérgica (Priori et al., 1994; Spagnolo et al., 2013), revelando uma redução de mecanismos de inibição diretamente e a partir de conexões inter-hemisféricas. Outra medida de pulso pareado por EMT é a inibição inter-hemisférica (IHI). Ela é medida ao fornecer um estímulo condicionante ao M1, seguido de um estímulo de teste ao M1 contralateral (Ferber et al., 1992). Essa inibição é possivelmente mediada por meio de vias inter-hemisféricas do corpo caloso (Ni et al., 2009). A IHI está reduzida em pacientes com DP, especificamente em pacientes com movimentos em espelho (Li et al., 2007), salientando uma possível representação clínica dessa alteração.

A função inibitória do cerebelo também pode ser mensurada pela EMT. A inibição cerebelar do cérebro (CBI) é mediada pela via cerebelo-talâmica-cortical e pode ser avaliada por pulso único por EMT do cerebelo seguido por pulso único na região de MI com um ISI de 5 a 8 ms (Pinto & Chen, 2001; Ugawa et al., 1995) A CBI está reduzida em pacientes com DP (Ni et al., 2010), ratificando a abrangência da redução de mecanismos inibitórios na DP.

Tabela 1. Medidas de EMT de pulso simples e pulso pareado em pacientes com DP

<b>Medidas de pulso único de EMT</b>	<b>DP em comparação aos controles</b>
Limiar motor	Reduzido
Período silente contralateral	Reduzido (quando em estado 'OFF')
Período silente ipsilateral	Reduzido (quando em estado 'OFF')
<b>Medidas de pulso pareado de EMT</b>	
SICI	Reduzido
SICF	Aumentado (quando em estado 'OFF')
IHI	Reduzido
CBI	Reduzido

CBI: Inibição Cerebelar do cérebro; IHI: Inibição Inter-hemisférica SICF: Facilitação Intracortical de Curto Intervalo SICI: Inibição Intracortical de Curto Intervalo. Adaptado de: (Chen et al., 2022)

Estudos sobre os circuitos corticais e suas interações na DP por meio de estudos de EMT com estímulos em simples ou pareado mostraram alterações em várias medidas de excitabilidade cortical e circuitos intracorticais (Tabela 1). Essas alterações podem variar de acordo com os estágios da doença, os efeitos dos medicamentos dopaminérgicos e a heterogeneidade clínica dos fenótipos da DP (Chen et al., 2022).

#### **1.1.4 PLASTICIDADE CEREBRAL**

A plasticidade refere-se à capacidade do tecido neural de modificar sua estrutura ou funções em resposta a estímulos, essas mudanças têm duração além do período de estimulação (Suppa et al., 2022). A plasticidade cerebral é considerada a base do aprendizado e da memória, medeia a recuperação de lesões cerebrais, como trauma

e acidente vascular cerebral, e está alterada em muitos distúrbios neurológicos e psiquiátricos (Appelbaum et al., 2023). A plasticidade cerebral abrange diferentes mecanismos de reorganização, incluindo recrutamento de vias que são funcionalmente homólogas, mas anatomicamente distintas das lesadas, fortalecimento de conexões sinápticas existentes, a arborização dendrítica e a sinaptogênese (Rossini et al., 2007). A transmissão sináptica pode ser tanto potencializada quanto deprimida como resultado da plasticidade, e essas mudanças abrangem domínios temporais que variam de milissegundos a horas ou até dias (Citri & Malenka, 2008).

Todas as sinapses excitatórias no cérebro virtualmente expressam várias formas diferentes de plasticidade sináptica de maneira simultânea (Citri & Malenka, 2008). Os mecanismos mais conhecidos que mediam a plasticidade sináptica são a potenciação de longa duração (LTP) e a depressão de longa duração (LTD). A LTP é geralmente definida como um aumento duradouro, mas não necessariamente irreversível, na força sináptica, ou também pode ser entendida como diminuição da LTD (Malenka & Bear, 2004). A indução de LTP e LTD dependem da ativação do receptor glutamatérgico N-metil-D-aspartato (NMDA) e do influxo de cálcio pós-sináptico, como representado na Figura 4 (Malenka & Bear, 2004; Massey & Bashir, 2007).

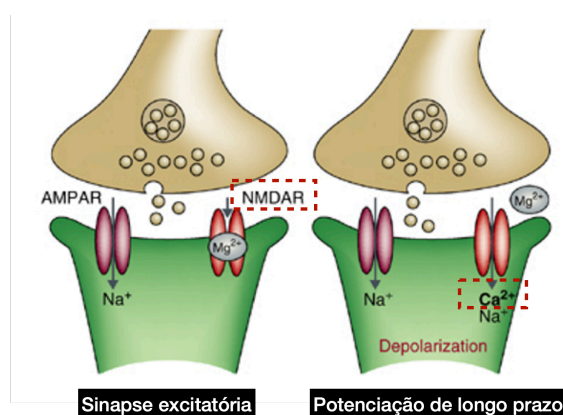


Figura 4. Modelo de transmissão sináptica em sinapses excitatórias. Durante a transmissão sináptica basal (painel esquerdo), o glutamato liberado se liga tanto aos receptores NMDA quanto aos AMPA. O íon  $\text{Na}^+$  flui através do canal AMPA, mas não através do canal NMDA devido ao bloqueio de  $\text{Mg}^{2+}$  desse canal. A despolarização da célula pós-sináptica (à direita) remove o bloqueio de  $\text{Mg}^{2+}$  do canal NMDA e permite que tanto  $\text{Na}^+$  quanto  $\text{Ca}^{2+}$  fluam para dentro do terminal dendrítico. O aumento resultante de  $\text{Ca}^{2+}$  é necessário para facilitar as despolarizações subsequentes que impulsionam a plasticidade sináptica. Adaptado de Citri & Malenka, 2008

Vários protocolos de EMT foram desenvolvidos para induzir a plasticidade cerebral (Kricheldorff et al., 2022). Eles incluem EMT repetitiva regular (rEMT), estimulação *thetaburst* (TBS) de forma contínua (cTBS) ou intermitente (iTBS) ( Figura 5). Além da estimulação quadripulso, e estimulação associativa em pares (PAS) (Figura 6). Esses protocolos são comumente utilizados para avaliar a plasticidade tipo LTP em M1 em indivíduos saudáveis e em pacientes com distúrbios do movimento (Suppa et al., 2022).

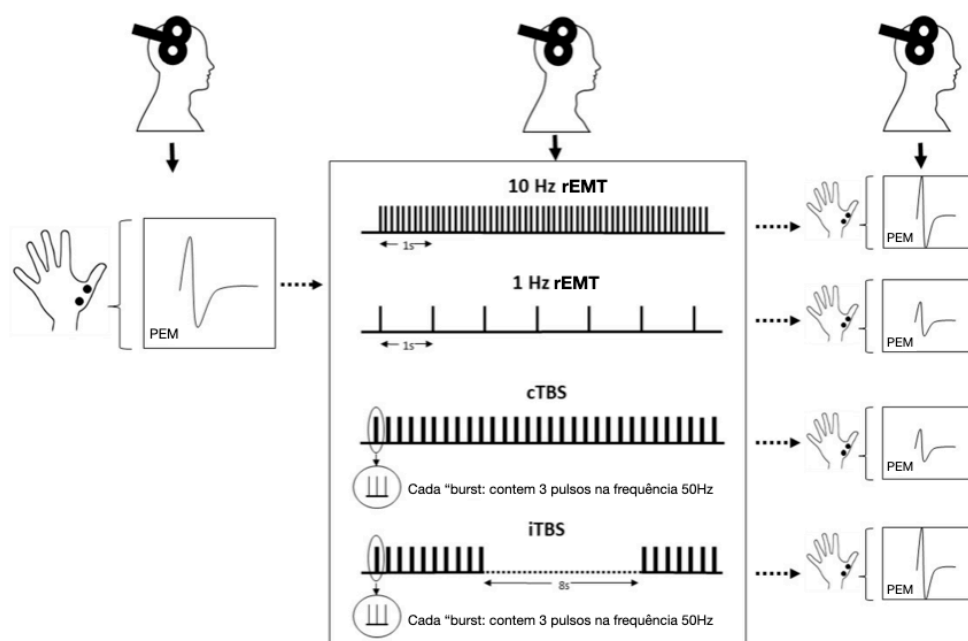


Figura 5. Representação de protocolos de indução de plasticidade com uso de EMT repetitivo e *thetaburst*. EMT: Estimulação magnética transcraniana; cTBS: estimulação *thetaburst* contínua; iTBS: Estimulação *thetaburst* intermitente. Adaptado de Kricheldorff et al. 2022

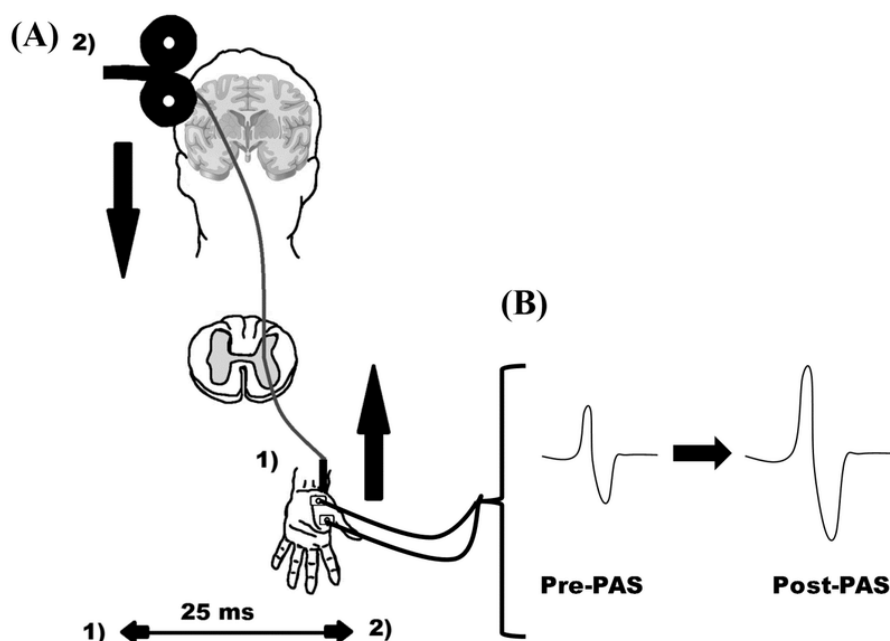


Figura 6. Representação de protocolos de indução de plasticidade com uso de estimulação associativa em pares. PAS: Estimulação associativa em pares. Retirado de Snow, 2015

### 1.1.5 PLASTICIDADE CEREBRAL NA DOENÇA DE PARKINSON

Estudos de EMT utilizando diferentes protocolos demonstraram que a plasticidade cortical está comprometida em pacientes com DP como resumido na Tabela 2. As pesquisas demonstram uma redução da plasticidade sem uso de medicação dopaminérgica (*OFF*), mas que geralmente é restaurada na fase *ON*, ou seja, com o uso da medicação (Bagnato et al., 2006; Chen et al., 2022; Kačar et al., 2013; Morgante et al., 2006; Moriyasu et al., 2022; Zamir et al., 2012). A resposta de plasticidade também é afetada por complicações motoras, como as discinesias induzidas pela levodopa (LID). (Bologna et al., 2018; Morgante et al., 2006; Rothwell, 2007; Suppa et al., 2017a).

Tabela 2. Resumo dos estudos que avaliaram neuroplasticidade em pacientes com DP

Referência	População	Protocolo	Resultado
Bagnato et al., 2006	16 pacientes com DP nos estados "ON" e "OFF" e 10 controles	PAS - Estímulo elétrico aplicado no nervo mediano, seguido por um pulso de EMT em	Ausência de efeito pela resposta avaliada pela amplitude do PEM em pacientes 'OFF' após 30 min com

	pareados por sexo e idade.	M1 contralateral, com ISI de 25 ms. 90 pares de estímulos foram entregues a 0,05 Hz.	restauração após uso de medicação dopaminérgica.
Morgante et al., 2006	16 pacientes com DP (9 com discinesia e 7 sem discinesia) nos estados “ON” e “OFF” e 9 controles pareados por sexo e idade.	PAS - Estímulo elétrico aplicado no nervo mediano, seguido por um pulso de EMT em M1 contralateral, com ISI de 21,5 ms por 30 min.	Ausência de efeito pela resposta avaliada pela amplitude do PEM em pacientes ‘OFF’ após 30 min com restauração após uso de medicação dopaminérgica apenas em pacientes sem discinesia
Zamir et al., 2012	12 pacientes com DP nos estados “ON” e “OFF” e 10 controles pareados por sexo e idade.	iTBS – trens de 3 pulsos a 50 Hz na frequência de 5 Hz por 2 s intercalados por 8 s de ausência de pulso, repetidos 20 vezes.	Aumento da resposta avaliada pela amplitude do PEM comparável entre pacientes ‘OFF’ , ‘ON’ e controles até 60 min após o protocolo
Kačar et al., 2013;	20 pacientes com DP no estado “OFF” , 10 DP <i>denovo</i> e 10 controles pareados por sexo e idade.	PAS - Estímulo elétrico aplicado no nervo mediano, seguido por um pulso de EMT em M1 contralateral, com ISI de 25 ms por 15 min	Aumento da resposta avaliada pela amplitude do PEM após 30 minutos do protocolo em todos os grupos, porém de maior magnitude nos controles em comparação aos pacientes DP-OFF e DP <i>denovo</i> .
Moriyasu et al., 2022;	16 pacientes com DP nos estados “ON” e “OFF” e 13 controles pareados por sexo e idade.	QPS - Quatro pulsos monofásicos de EMT gerados repetidos a cada 5 s por 30min.	Ausência de efeito pela resposta avaliada pela amplitude do PEM em pacientes ‘OFF’ após 30 min com restauração após uso de medicação dopaminérgica.

DP: Doença de Parkinson; *denovo*: Paciente com DP recém diagnosticado e ainda sem uso de medicação ISI: Intervalo Inter estímulo; min.: Minuto(s); M1: Córtex motor; EMT: Estimulação magnética transcraniana; QPS: Estimulação quadripulso; s: Segundo(s).

O comprometimento da plasticidade do córtex motor em pacientes com DP correlaciona-se com a gravidade dos sintomas motores (Chen et al., 2022). Um estudo comparando DP com controles saudáveis, demonstrou que o grau de bradicinesia dos pacientes com DP estava relacionado com redução de resposta ao protocolo de pulso pareado, ou seja, redução da capacidade de indução de plasticidade (Bologna et al., 2018). Guerra et al. demonstraram que pacientes com DP apresentavam comprometimento da indução plasticidade avaliada após a aplicação de rEMT na

frequência 5Hz em M1, o que estava correlacionado à gravidade da bradicinesia apresentada pelos pacientes. Após a restauração da plasticidade com uso de estimulação elétrica com corrente alternada (tACS) observa-se melhora da bradicinesia e da capacidade de inibição intracortical GABA-A avaliada pela mensuração de SICl (Guerra, Colella, et al., 2023), corroborando a correlação entre plasticidade e sintomas motores.

## 1.2 ULTRASSOM

### 1.2.1 PROPRIEDADES DO ULTRASSOM

O ultrassom é uma vibração mecânica cíclica com frequência maior que o limite superior da audição humana, que é aproximadamente 20kHz em adultos jovens, saudáveis. As ondas ultrasônicas são geradas a partir do efeito pizoelétrico. O efeito piezoelétrico é a capacidade de alguns materiais de gerar uma carga elétrica quando são submetidos a uma pressão mecânica ou de mudar de forma quando são submetidos a uma tensão elétrica, podendo gerar uma onda mecânica, ou vibração. Os transdutores de ultrassom são construídos a partir de materiais pizoelétricos (Shriki, 2014).

Os parâmetros gerais do ultrassom fornecem informações cruciais sobre a natureza e as características da onda ultrassônica emitida. Eles incluem a frequência fundamental ( $f_0$ ), medida em Hertz (Hz), que representa o número de vezes que uma partícula vibrante passa por sua posição original em um segundo. O comprimento de onda ( $\lambda$ ), que refere-se à distância entre dois picos sucessivos da onda ultrassônica. E, o período, que é a quantidade de tempo necessário para completar um ciclo (T). velocidade do som (c) varia dependendo do meio através do qual ele se propaga, especialmente de sua densidade e elasticidade (Carlsen, 1975) . Essas variáveis seguem a relação fundamental:  $c = \lambda \times f_0$ . A estimulação por ultrassom transcraniano é feita a partir de pulsos curtos de ultrassom a uma frequência de repetição de pulsos fixa. O ciclo de trabalho é determinado pela relação entre o tempo de envio de uma pulsação e o tempo total do ciclo. Por exemplo, se o transdutor envia uma pulsação a cada 10 milissegundos e o tempo total do ciclo é de 20 milissegundos, o ciclo de trabalho seria de 50%, como exemplificado na Figura 7.

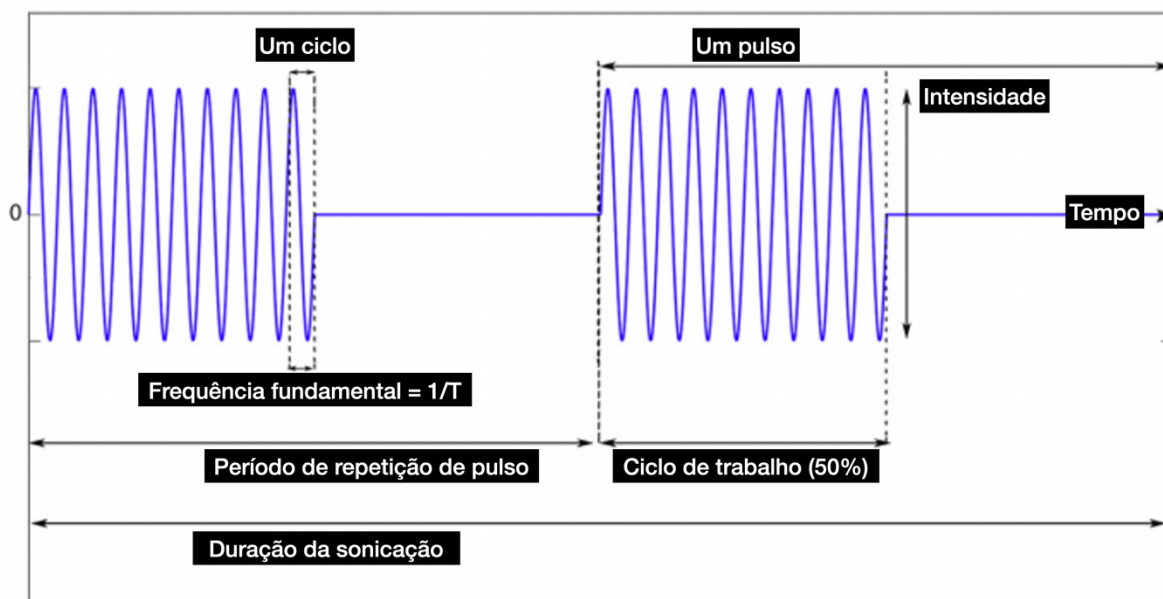


Figura 7. Visualização de parâmetros de ultrassom que podem ser personalizados para alterar os efeitos esperados. T:Ciclo. Adaptado de Fomenko et al., 2018.

Os parâmetros padronizados para quantificar a intensidade do ultrassom incluem a Intensidade de Pico Espacial e Média Temporal (ISPPA), que representa a medida da intensidade máxima de uma onda ultrassônica em um ponto específico no espaço. Essa métrica é crucial para avaliar a potência máxima atingida pela onda em um local determinado. Além disso, a Intensidade Média Espacial e Média Temporal (ISPPA) é outra medida relevante, expressando a intensidade média da onda ultrassônica ao longo do tempo (Fomenko et al., 2018). Esses valores padronizados desempenham um papel fundamental na avaliação e na garantia de conformidade com as normas de segurança, permitindo uma análise precisa da distribuição e do comportamento da intensidade do ultrassom em diversas aplicações médicas e industriais. As diretrizes da *Food and Drug Administration* (FDA) para ultrassom no cérebro humano sugerem uma ISPPA máxima de  $190\text{W}/\text{cm}^2$  e ISPTA de  $94\text{mW}/\text{cm}^2$  (U.S. Food and Drug Administration, 2019) Esses valores podem ser determinados empiricamente para qualquer dispositivo usando medição e modelagem em um tanque de água, permitindo que os pesquisadores estimem a pressão e a focalidade de seus dispositivos, dadas as configurações selecionadas (Darmani et al., 2022). Dentro desses limites, a estimulação por ultrassom possui vários parâmetros que podem ser controlados para estimular o cérebro (Figura 7).

É necessário considerar a atenuação do ultrassom em cada meio para calcular o valor final de energia transmitido ao alvo. A atenuação pode ocorrer secundária ao espalhamento, absorção e reflexão. Os valores variam de acordo com o tecido, a água tem atenuação desprezível, o sangue tem atenuação de 0.03dB/cm/MHz, e tecidos moles tem atenuação de 0.3dB/cm/MHz. ar, osso e metal requerem normalmente frequências menores que 1MHz ou irão atenuar toda a energia do ultrassom (Papaléo & De Souza, 2019).

O foco acústico do ultrassom é pequeno e permite estimulação de áreas muito focais no cérebro. Contudo, existe um fator limitante importante, quanto maior a frequência, maior será a resolução espacial, porém, quando em frequências muito altas, a energia é absorvida pelo osso (crânio), gerando uma distorção importante do foco. Assim, os transdutores transcranianos tem o foco limitado pela frequência. Usualmente, é utilizada uma frequência de até 700kHz, gerando uma perda aceitável pela absorção do osso da calota craniana e mantendo uma focalização bastante precisa, de aproximadamente 3 – 6 mm de diâmetro (White et al., 2006).

### **1.3 ULTRASSOM FOCAL TRANSCRANIANO**

O uso neurológico do ultrassom tem se expandido nos últimos anos. Recentemente, o uso de ultrassom na faixa de frequência de megahertz (MHz) para ablação térmica de tecidos cerebrais tem se tornado uma área de interesse para doenças neurológicas. O ultrassom focal de alta frequência guiado utiliza a ressonância magnética (RM) em conjunto com milhares de canais de ultrassom para induzir lesões em estruturas cerebrais subcorticais com precisão milimétrica e de maneira minimamente invasiva (Bretszajn & Gedroyc, 2018). Em 2016, a FDA dos Estados Unidos e, em 2021, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) do Brasil aprovaram esse procedimento para o tratamento do tremor essencial.

Há, também, um crescente interesse no uso de ultrassom focalizado com o intuito de gerar uma abertura reversível da barreira hematoencefálica (Hynynen et al., 2005; Sheikov et al., 2004). Essa abertura permite que os fármacos acessem

determinadas regiões cerebrais de maneira mais precisa e em maiores concentrações do que quando administrados por outras vias. Estudos exploratórios com doença de Alzheimer e DP, mostraram que esse uso do ultrassom é seguro e possivelmente viável como uma opção clínica de via de administração de fármacos no sistema nervoso central (Gasca-Salas et al., 2021; Lipsman et al., 2018).

O uso do ultrassom transcraniano focal de baixa frequência (UFBI) para a modulação neural se iniciou antes dos usos mencionados anteriormente. Os primeiros experimentos mostraram supressão reversível da atividade espontânea de disparo neuronal mediante exposição a ultrassom (W. J. Fry, 1954). E, em 1958, William Fry utilizou o UFBI para estimular o núcleo geniculado lateral de gatos, resultando na supressão de potenciais evocados visuais registrados no córtex visual (F. J. Fry et al., 1958). O trabalho seminal realizado por Tyler e colaboradores mostrou pela primeira vez que a estimulação por UFBI era capaz de modular o tecido neural do hipocampo por meio da ativação dos canais de sódio e cálcio sensíveis à voltagem (Tyler et al., 2008). Contudo, apenas mais recentemente o UFBI tem sido mais bem explorado como técnica de neuromodulação não invasiva.

O UFBI é capaz de modular o cérebro de maneira reversível a partir da propagação de ondas acústicas pelo crânio de maneira focal e precisa como evidenciado em simulação do uso de UFBI em crânio humano utilizando o software *K wave* para estimar o trajeto do ultrassom dentro do crânio tendo como alvo o córtex motor, como detalhado na Figura 8.

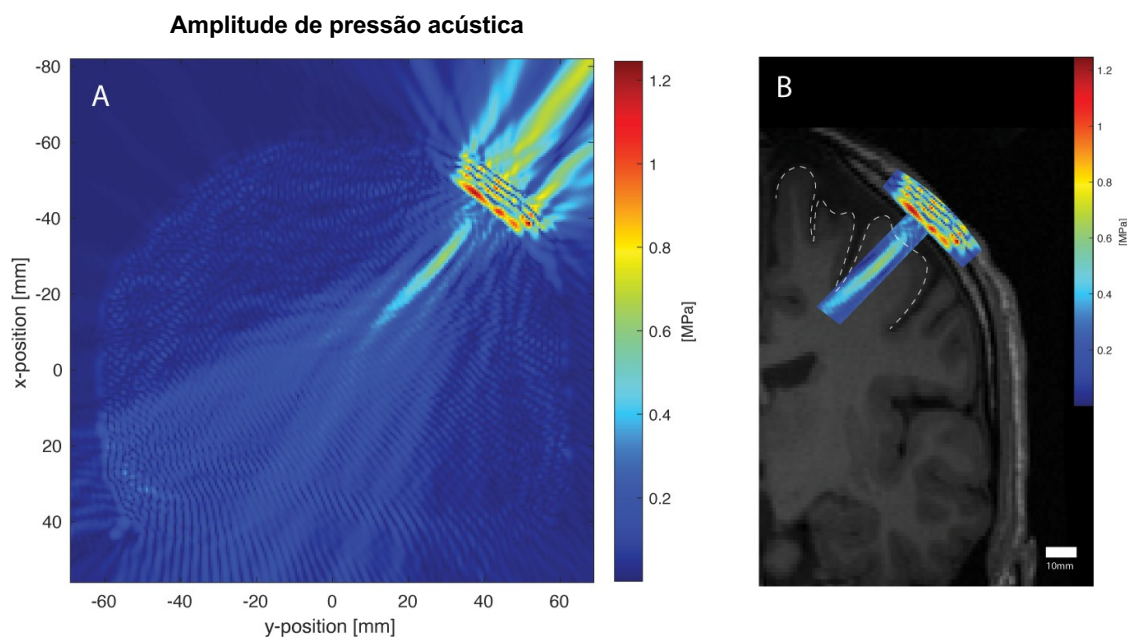


Figura 8. A: Perfil de pressão acústica do transdutor de 500 kHz sonificando contra o couro cabeludo do participante na localização determinada pela neuronavegação. Pode-se observar um foco em formato de cigarro dentro do cérebro, além de um artefato proveniente da face não ativa do transdutor. B: Perfil de pressão abaixo do transdutor sobreposto à ressonância magnética T1 do participante (apenas o hemisfério esquerdo mostrado), com a superfície cortical do córtex motor primário mostrada por uma linha pontilhada. Áreas fora do foco acústico foram cortadas. Adaptado de Fomenko et al. 2020

A precisão da focalidade do UFBI é superior a de todos os métodos atuais de neuromodulação não-invasiva, como EMT e a estimulação por corrente contínua (tDCS) (Darmani et al., 2022; Pasquinelli et al., 2019) . Estudos utilizando UFBI em

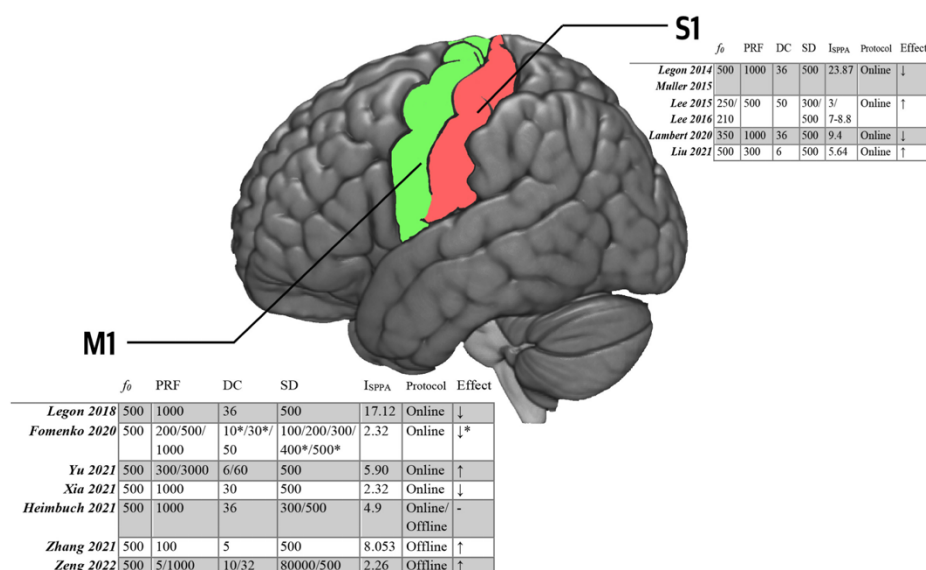


Figura 9. Resumo dos estudos com Ultrassom focal transcraniano de baixa intensidade. DC: Ciclo de trabalho PRF: Frequência de repetição de pulso; SD: Duração da emissão do ultrassom. Extraído de Sarica et al., 2022

seres humanos produziram uma ampla gama de efeitos excitatórios e inibitórios em áreas-alvo corticais (Figura 9) (Sarica et al., 2022).

### 1.3.1 ULTRASSOM FOCAL TRANSCRANIANO DE BAIXA INTENSIDADE

#### 1.3.1.1 MECANISMO DE AÇÃO DO ULTRASSOM FOCAL TRANSCRANIANO DE BAIXA INTENSIDADE

Atualmente, existem três potenciais mecanismos de ação do UFBI para induzir neuromodulação, são eles: cavitação, alteração de temperatura e deformação mecânica (Figura 10). É importante considerar que esses mecanismos podem operar em paralelo, e todos os subtipos neurais e paradigmas experimentais provavelmente têm sensibilidades diferentes a vários mecanismos.

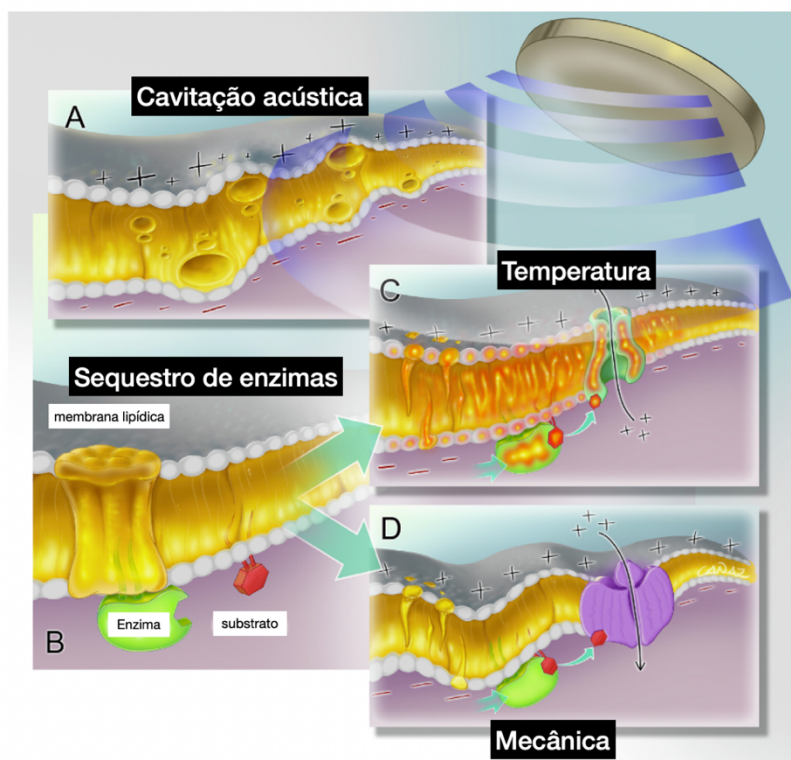


Figura 10. Mecanismos de ação propostos para o UFBI. (A) A cavitação acústica provoca a formação de bolhas dentro da membrana neuronal, resultando em mudanças de capacitância ou quebra da membrana celular. (B) Os canais lipídicos sequestram enzimas ancoradas à membrana intracelular e limitam as interações com substratos ligados à membrana. (C) Aumento de temperatura ou (D) força mecânica aplicada à membrana interrompe os canais lipídicos, resultando na translocação da enzima e no aumento das reações enzimáticas

do substrato. As moléculas emergentes alteram a abertura de canais iônicos mecanossensíveis. Embora os canais iônicos possam ser sensíveis tanto à temperatura quanto à mecânica, diferentes canais mostrados em (C) e (D) enfatizam que eles podem ter sensibilidades diferentes à temperatura ou à força mecânica. Adaptado de Darmani et al., 2022

A cavitação acústica ocorre quando a pressão cai abaixo do ponto de vaporização da zona lipofílica da membrana. Isso provoca a formação oscilatória de

bolhas dentro da membrana neuronal. Contudo, sugere-se que os parâmetros efetivos comumente utilizados causariam mudanças na atividade neural na ausência desse fenômeno, visto que bolhas não foram encontradas na maioria dos experimentos (Yoo et al., 2022) .

Alguns experimentos *ex vivo* suportam a hipótese de deformação mecânica, Tyler et al. demonstrou que o UFBI foi capaz de ativar canais iônicos dependentes de voltagem, resultando em exocitose vesicular sináptica e transmissão sináptica (Tyler et al., 2008). Ademais, posteriormente foi demonstrado que canais iônicos mecanossensíveis também podem ser ativados pela estimulação UFBI (Brohawn et al., 2014). A ativação de canais iônicos dependentes de voltagem com ultrassom sugere que esses canais podem ter propriedades mecanossensíveis, e a deformação pode ser um dos mecanismos para o UFBI gerar neuromodulação (Kubanek et al., 2016).

Por fim, é preciso considerar o potencial efeito da temperatura. Alguns estudos têm demonstrado a supressão reversível da atividade neural após o aumento térmico induzido por ultrassom. Há crescentes evidências que sustentam o papel do aumento da condutância dos canais de potássio, o que reduz o potencial de membrana em repouso e, conseqüentemente, a atividade neuronal (Prieto et al., 2020). Dada a diversidade de tipos de canais que são pelo menos moderadamente termossensíveis, uma caracterização mais abrangente do cérebro e de cada região e seu perfil de tipos celulares proporcionará uma compreensão mais profunda do papel da alteração de temperatura com mecanismo de ação do UFBI (Tan et al., 2016).

Coletivamente, uma diversidade de canais iônicos regula os efeitos neuromodulatórios do UFBI por meio da alteração mecânica da membrana, e a composição dos canais provavelmente varia substancialmente entre os tipos celulares. Embora quase todos os canais mecanossensíveis também tenham sido identificados como termossensíveis, o ultrassom aparentemente pode ativar esses canais independentemente de qualquer mudança térmica significativa. O mecanismo de alteração mecânica parece ser o mais provável, porém não se pode excluir uma possível atuação da temperatura como um dos fatores do mecanismo de neuromodulação do UFBI (Darmani et al., 2022).

### 1.3.1.2 EFEITO *ONLINE* DO ULTRASSOM FOCAL TRANSCRANIANO DE BAIXA INTENSIDADE

Estudos utilizando UFBI em seres humanos produziram uma ampla gama de efeitos excitatórios e inibitórios em áreas-alvo corticais e subcorticais (Fomenko et al., 2018). Um estudo recente examinou sistematicamente os efeitos de diferentes parâmetros de UFBI na excitabilidade cortical motora em indivíduos saudáveis (Fomenko et al., 2020b). Evidenciou-se redução na excitabilidade cortical após o uso do UFBI em parâmetros específicos durante sonicação com duração de 500ms (Figura 11). Essa inibição cortical foi mensurada pela redução do potencial evocado motor (PEM), que foi aferido utilizando EMT simultâneo ao uso do UFBI, denominado efeito *online*. Outro estudo com protocolo semelhante mostrou efeitos inibitórios similares quando o UFBI teve o córtex motor como alvo (Legon et al., 2018a).

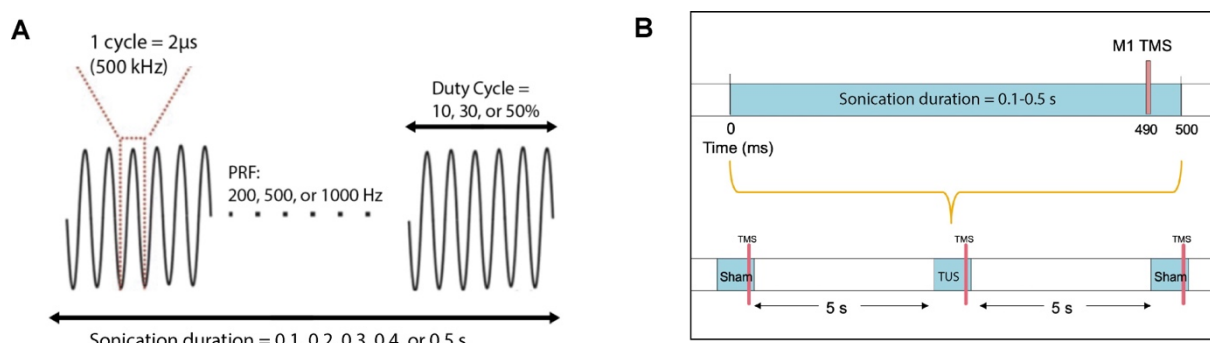


Figura 11. (A) Parâmetros acústicos da estimulação por UFBI que foram avaliados nos experimentos realizados por Fomenko et al. incluem diferentes durações de sonicação, frequências de repetição de pulsos e porcentagens de ciclo de trabalho. A frequência fundamental foi mantida constante em 500 kHz. (B) Durante a estimulação por EMT e UFBI variou-se o parâmetro de duração da sonicação. Diferentes durações (0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 segundos) da condição UFBI ativo foram randomizadas com a condição de UFBI placebo. O pulso único de EMT ocorreu 10 ms antes do final da sonicação. Foi utilizado um intervalo de estímulo de 5 segundos entre cada época de estimulação. Extraído de Fomenko et al. 2020. Cycle: ciclo; Duty cycle: Ciclo de trabalho; PRF: Frequência de repetição de pulso; Sonication duration: Duração da emissão do ultrassom; Sham: Placebo; TUS: UFBI. Extraído de Fomenko et al., 2020

Até o momento, os efeitos imediatos *online* da estimulação por UFBI em humanos já foram observados em uma variedade de estruturas corticais e subcorticais. A UFBI sobre o córtex somatossensorial primário (S1) foi capaz de atenuar os potenciais evocados somatossensoriais (PES), melhorar o desempenho

em uma tarefa de discriminação sensorial, além de evocar sensações táteis transitórias específicas da representação topográfica no S1 (Legon et al., 2014; Liu et al., 2021). Da mesma forma, a UFBI sobre o córtex visual primário (V1) não apenas induziu a ativação medida por ressonância magnética funcional do V1, mas também induziu potenciais evocados visuais e fosfenos percebidos nos participantes (Lee et al., 2016).

Quando M1 é o alvo, a estimulação com UFBI com frequência de 1KHz demonstrou ser capaz de inibir os PEMs mensurados simultaneamente à sonicação a partir de um aparato que acoplou o UFBI ao EMT (Figura 12) (Fomenko et al., 2020b; Legon et al., 2018b).

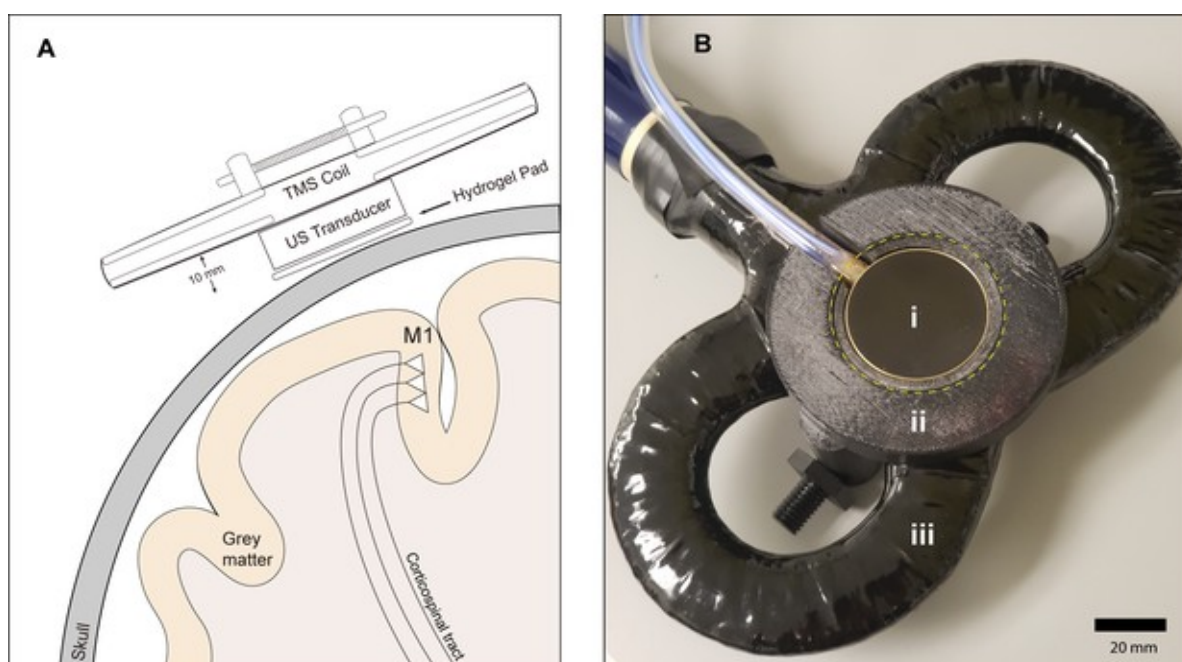


Figura 12. Diagramas mostrando como um transdutor de UFBI de 2 canais acoplado a uma bobina de EMT para modular o M1 no estudo de Fomenko et al. (2020) e Xia et al. (2021). A) Um suporte personalizado com espessura de 10 mm é usado para segurar o transdutor logo abaixo da bobina de EMT em forma de oito, com uma película de hidrogel usada para acoplar o transdutor ao couro cabeludo. B) Fotografia de i) transdutor de UFBI de 2 canais, ii) suporte personalizado impresso em 3D para UFBI-EMT e iii) bobina de EMT em forma de oito de 70 mm. Adaptado de Fomenko et al., 2020. Corticospinal tract: Trato corticoespinal; US Transducer: Transdutor de ultrassom; Hydrogel Pad: película de hidrogel; Skull: crânio.

Além disso, foi demonstrado que a UFBI sobre o M1 reduz a ICF e SICI mensuradas simultaneamente pelo aparato UFBI-EMT, além de reduzir o tempo de reação em uma tarefa visuomotora (Darmani et al., 2022). Um outro estudo avaliou o

curso temporal da estimulação *online* por UFBI na excitabilidade do córtex motor e mostrou que para um tempo de sonicação de 500ms a inibição motora ocorre de 10ms antes até 20ms após o término da estimulação pelo UFBI (Xia et al., 2021).

Uma importante limitação do método “*online*” é o som produzido pelo aparelho ou utilizado como mascaramento como possível fator de confusão na neuromodulação. O UFBI possui uma percepção auditiva e, quando aplicado à pele, isso também pode induzir uma sensação tátil. Essas percepções sensoriais podem causar ativação indireta do córtex auditivo e/ou somatossensorial (Qi et al., 2021). Em animais, a estimulação por UFBI leva a uma ativação cortical generalizada em camundongos devido à ativação indireta do córtex auditivo, o que pode confundir os efeitos neurofisiológicos esperados da estimulação (Sato et al., 2018). Da mesma forma, uma ativação auditiva durante a estimulação por UFBI em humanos foi observada por meio de potenciais relacionados a eventos auditivos. Alguns estudiosos defendem que a ativação direta/indireta do córtex auditivo interage com os efeitos esperados do UFBI (Braun et al., 2020; Park et al., 2021). Esse fator tem implicações para a generalização dos efeitos do UFBI, especialmente no que diz respeito a protocolos de estimulação *online*.

Um estudo recente mostrou que os efeitos inibitórios motores do UFBI foram reproduzidos por experimentos controle rigorosos em que houve manipulação da intensidade, duração e condições de mascaramento auditivo da estimulação, sugerindo, então, que essa inibição seria resultado da estimulação auditiva periférica, e não de uma neuromodulação direta (Benjamin R. Kop et al., 2023). Esse resultado chama atenção para necessidade de controle meticuloso da metodologia no que tange aos efeitos sonoros produzidos pelos aparelhos ou usados para mascaramento auditivo.

### 1.3.1.3 EFEITO OFFLINE DO ULTRASSOM FOCAL TRANSCRANIANO

Além dos efeitos *online*, o uso do UFBI também pode acarretar efeitos mensuráveis até cerca de sessenta minutos após a estimulação (efeito *offline*). O uso de protocolo com frequência de 5Hz (*thetaburst*) (Figura 13) em 15 indivíduos

saudáveis mostrou aumento da excitabilidade cortical avaliado a partir do PEM. Houve também redução de medida indireta de inibição (SICI) e aumento de medida indireta de excitabilidade cortical (ICF) avaliados com base em protocolos de pulso pareado utilizando EMT (Zeng et al., 2021).

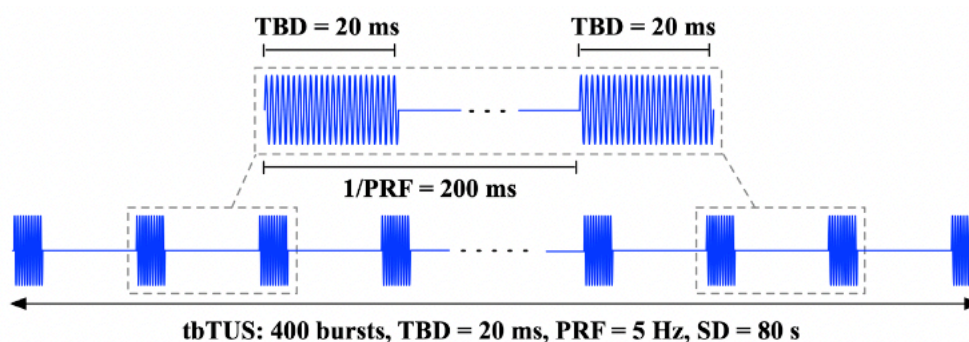


Figura 13. *Thetaburst* UFBI (tbUFBI) consiste em um trem de pulso de 80 segundos com pulsos de ultrassom de 20 milissegundos (0,5 MHz) repetidos a cada 200 milissegundos (400 pulsos). Extraído de Zeng et al. 2021. TBD: duração do *thetaburst*; PRF: Frequência de repetição de pulso; tbTUS: tbUFBI; SD: Duração da emissão do ultrassom.

O efeito *offline* do UFBI se refere ao seu efeito de neuromodulação que perdura após o período de emissão do ultrassom. Zeng et al. introduziu um protocolo *offline* excitatório de UFBI com frequência *thetaburst* (tbUFBI), utilizando uma sonicação de 80s com duração de pulso de 20ms entregues a uma PRF de 5 Hz. Isso significa que a PRF é entregue em uma frequência theta de ~5 Hz (Zeng et al., 2021). O padrão de estimulação foi modelado a partir da estimulação *thetaburst* do EMT (TBS), um protocolo eficaz para induzir plasticidade, pois imita o padrão natural de disparo no cérebro (Huang et al., 2005). Os autores também usaram um outro protocolo de UFBI repetitivo não excitatório e uma estimulação placebo como experimentos controles na avaliação do efeito do tbUFBI. Evidenciou-se um aumento significativo dos PEMs em comparação a linha de base, até 30 minutos após o tbUFBI ativo (Figura 14). No que tange as medidas de pulso pareado, SICI mostrou redução por até 30 minutos, enquanto a ICF teve um aumento evidenciado por até 5 minutos. Além disso, o tempo de movimento na tarefa visuomotora foi significativamente reduzido após o tbUFBI ativo, enquanto a precisão e o tempo de reação não foram afetados (Zeng et al., 2022).

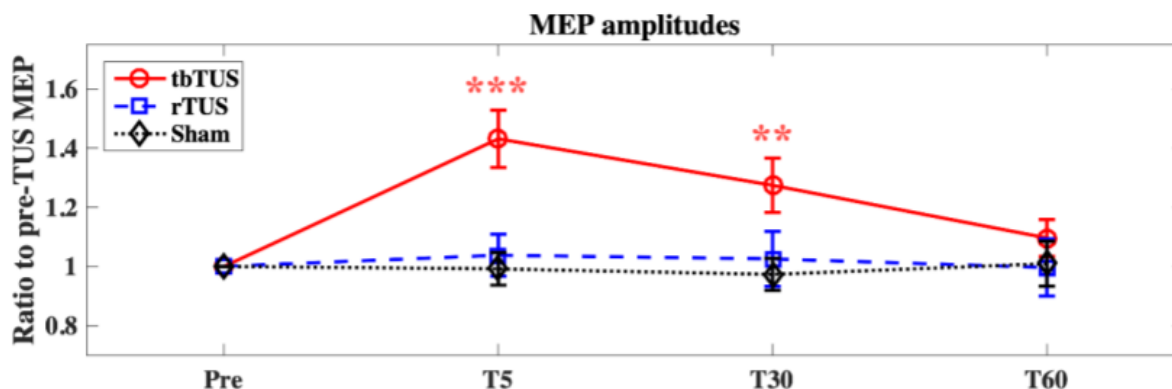


Figura 14. Amplitudes dos PEMs normalizadas em relação à linha de base após a aplicação de tbUFBI em vermelho ("tbTUS"), em azul a estimulação repetitiva controle ("rTUS") e a estimulação placebo inativa ("sham") em preto. Até 30 minutos após a aplicação de tbUFBI sobre M1, as amplitudes dos PEMs são significativamente maiores do que a linha de base. Adaptado de Zeng et al., 2021. Ratio to pre-TUS MEP: Razão para o PEM preUFBI; MEP amplitudes: Amplitudes dos PEMs. Pre: linha de base; T5: 5 minutos; T30: 30 minutos T60: 60 minutos.

Além disso, um estudo utilizando protocolo tbUFBI e avaliando os efeitos excitatórios com uso magnetoencefalografia mostrou aumento da conectividade local e inter-regional, além de aumento da potência das bandas alfa e beta que são associados com o movimento, em áreas corticais e subcorticais, incluindo o córtex motor suplementar, gânglios da base e região parietal. Esse estudo também avaliou adultos jovens saudáveis e mostrou correlação com aumento da velocidade em uma tarefa motora após sonicação do córtex motor com protocolo tbUFBI (Samuel et al., 2022).

Um protocolo indutor de plasticidade diferente do tbUFBI foi descrito recentemente. Esse protocolo é denominado UFBI repetitivo (rUFBI), composto por uma sonicação de 500ms aplicada a cada 8 segundos durante 15 minutos sobre M1 (Zhang et al., 2021). Em comparação com a linha de base, as amplitudes dos PEMs aumentaram significativamente até 30 minutos após o rUFBI ativo, e o tempo de reação ao sinal de parada foi significativamente reduzido após o rUFBI ativo, em comparação com a estimulação placebo, como mostra a Figura 15.

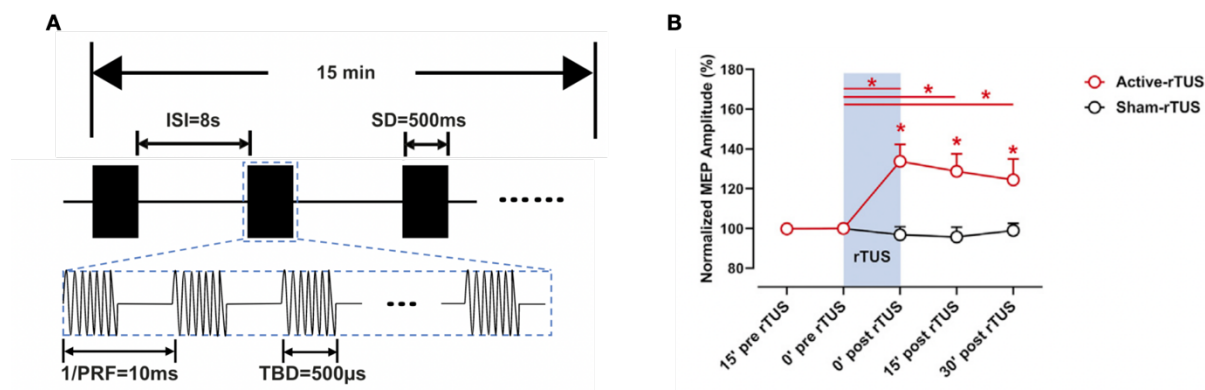


Figura 15. A: Diagrama esquemático dos parâmetros de rUFBI utilizados. B: A intervenção de rUFBI ativo, mas não a intervenção de rUFBI placebo, resulta na potenciação de PEMs por até 30 minutos. Adaptado de Zhang et al., 2021. SD: Duração da sonicação; ISI: Intervalo interestímulo; rTUS: rUFBI; TBD: Duração do burst

Os protocolos tbUFBI ou rUFBI ainda não foram utilizados em estudos com humanos que possuem doenças neurológicas. A indução de plasticidade demonstrada por esse método em indivíduos saudáveis, torna o tbUFBI uma ferramenta promissora para uso em doenças com alteração da excitabilidade e plasticidade cerebral como DP, acidente vascular cerebral e distonia, por exemplo (Sarica et al., 2022).

A despeito do crescente número de estudos com o uso de UFBI, seu uso em indivíduos com doenças neurológicas ainda foi pouco explorado. Modelos animais de epilepsia mostraram redução do número de crises com uso de UFBI (Lin et al., 2020) e o uso em humanos começou a ser avaliado, ainda sem dados robustos (Chou et al., 2021). Em relação aos distúrbios do movimento, a capacidade do UFBI de induzir plasticidade cerebral com alta resolução espacial e em estruturas profundas tem potencial terapêutico ao ter como alvo os núcleos da base ou o cerebelo (Sarica et al., 2022). Estudos têm mostrado que a neuromodulação por UFBI suprimiu tremores em um modelo animal de tremor essencial (Sharabi et al., 2019), aumentou a liberação de dopamina e reduziu atividades eletroencefalográficas relacionadas aos sintomas motores parkinsonianos em modelos animais de DP (Wang et al., 2020; Xu et al., 2020).

## 2 JUSTIFICATIVA

O UFBI é um método de neuromodulação não invasiva ainda pouco explorado. Este será o primeiro estudo a aplicá-lo na DP. Esta será uma primeira etapa crítica no entendimento das alterações neurofisiológicas provocadas pelos protocolos de UFBI *online* e tbUFBI na DP. Sabe-se que pacientes com DP possuem alterações na excitabilidade e capacidade de plasticidade cerebral, contudo, a sua interação com o UFBI como ferramenta de neuromodulação ainda não é conhecida.

Como se trata de uma ferramenta de neuromodulação não-invasiva com mecanismo de ação possivelmente diferente dos métodos utilizados anteriormente, como EMT e tDCS, esse estudo permitirá entender a modulação e funcionamento do cérebro de indivíduos com DP por outro prisma. Os resultados ajudarão não só a entender melhor as alterações neurofisiológicas dos pacientes com DP e sua relação com a dopamina, mas também a elucidar os mecanismos subjacentes às alterações geradas pelo UFBI.

Como uma meta de longo prazo, pode-se citar também a possibilidade de aplicação do UFBI como ferramenta terapêutica. A aplicação de várias sessões de EMT repetitiva já foi aprovada pela Health Canada, FDA e ANVISA para o tratamento de depressão. Ressalta-se, assim, que a neuromodulação não-invasiva já é utilizada como uma opção terapêutica. Se a aplicação de uma única sessão de UFBI mostrar resultados promissores, haverá embasamento para o planejamento de estudos futuros a fim de testar a eficácia de múltiplas sessões de UFBI como um novo tratamento para DP.

O UFBI tem a possibilidade de atingir estruturas mais profundas do cérebro demonstra a importância de se estudar esse método que possui uma aplicabilidade promissora na DP a partir da modulação dos gânglios da base. Outra característica importante é a portabilidade do UFBI e a perspectiva de redução no custo a médio prazo, tornando-o uma possível ferramenta terapêutica acessível a grande parte da população.

A DP possui apresentações muito heterogêneas. A despeito de inúmeros tratamentos já desenvolvidos, ainda existem muitos pacientes sem uma opção terapêutica adequada disponível. Diante do impacto significativo que a DP tem na vida dos pacientes afetados e de suas famílias, a busca por novas formas de tratamento é essencial e deve ter caráter prioritário na comunidade médico-científica.

## 2.1 HIPÓTESE

1. O protocolo *online* induziria inibição em controles e pacientes DP-ON, mas não em pacientes DP-OFF
2. A plasticidade do M1 induzida pelo tbUFBI seria prejudicada em pacientes com DP sem medicação e restaurada com o tratamento dopaminérgico em pacientes com DP.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Avaliar os efeitos *online* e *offline* de uma sessão com uso UFBI em topografia de M1 na excitabilidade cortical de pacientes com DP com e sem uso de droga dopaminérgica em comparação a controles saudáveis aferido a partir de PEM, SICI e SICF (Tabela 3).

#### 3.2 ESPECÍFICOS

1. Correlacionar as alterações induzidas pelo UFBI com as características clínica da DP, como gravidade da doença e presença de discinesias.
2. Avaliar os efeitos offline de uma sessão com uso UFBI em topografia de M1 nos sintomas motores em pacientes com DP.
3. Correlacionar a plasticidade cortical medido por EMT em pacientes com DP com o grau de gravidade dos sintomas motores da doença medido pela escala mUPDRS.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 DESENHO DO ESTUDO OU DELINEAMENTO

Estudo prospectivo, caso controle, com intervenção com uso de ultrassom em duas etapas: *online* (placebo controlado) e *offline* (não controlado por placebo), com avaliação de efeitos imediatos clínicos e neurofisiológicos. Foram selecionados pacientes que frequentam o ambulatório de transtornos do movimento de Hospital Toronto Western e controles a partir de divulgação da pesquisa por meio de cartazes em Hospitais e prédios da Universidade de Toronto. Os dados foram coletados de Junho de 2021 a Outubro de 2023.

### 4.2 SUJEITOS DA PESQUISA

#### 4.2.1 Critérios de inclusão grupo DP:

1. Avaliação clínica realizada por um especialista em distúrbios do movimento, com diagnóstico clínico de DP idiopática a partir dos critérios da Sociedade Internacional de doença Parkinson e distúrbios do movimento (Postuma et al., 2015a).
2. Capacidade de ler e compreender o termo de consentimento livre e esclarecido

#### 4.2.2 Critérios de inclusão grupo controle:

##### A. Experimento *online* I e *offline* I e II:

1. Idade entre 45 e 80 anos.
2. Capacidade de ler e compreender o termo de consentimento livre e esclarecido

##### B. Experimento *online* II:

1. Idade entre 18 e 45 anos.
2. Capacidade de ler e compreender o termo de consentimento livre e esclarecido

### 4.2.3 Critérios de exclusão:

1. Diagnóstico de doença neurológica, excluindo-se DP para o grupo DP ;
2. Diagnóstico de doença psiquiátrica;
3. Uso regular de substâncias com ação no sistema nervoso central, excluindo-se as medicações antiparkinsonianas como levodopa, entacapone, amantadina pramipexol, rotigotina ou selegilina no grupo DP;
4. Implante de marcapasso ou eletrodo de estimulação profunda;
5. Histórico de acidente vascular cerebral ou crise epiléptica.

#### 4.2.3.1 ONLINE

##### A. Experimento I

Foi selecionada uma amostra de 8 pacientes com DP e 12 indivíduos controle pareados por sexo e idade

##### B. Experimento II

Foi selecionada de uma amostra de 16 indivíduos saudáveis entre 18 – 45 anos

#### 4.2.3.2 OFFLINE

##### A. Experimento I

Foi selecionada uma amostra 20 pacientes com DP e 17 indivíduos controle pareados por sexo e idade.

##### B. Experimento II

Foi selecionada uma amostra 15 pacientes com DP no estado “OFF” e 7 pacientes com DP *denovo*, pareados por sexo e idade.

### 4.3 PROTOCOLO

#### 4.3.1 ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA

A EMT foi conduzida utilizando uma bobina no formato de figura de 8 de 70 mm conectada a dois estimuladores Magstim 2002 (Magstim®, Whitland, Dyfed, Reino Unido). Os pulsos magnéticos foram elicitados para induzir corrente na direção posterior-anterior (PA) posicionando a bobina a cerca de  $\sim 45^\circ$  graus em relação à linha médio-sagital (Sakai et al., 1997). A localização da área ótima da mão do córtex motor ('hotspot') para estimulação do músculo primeiro interósseo dorsal (FDI) contralateral foi realizada movendo a bobina em incrementos de 0,5 cm sobre a localização esperada tendo como ponto referencial inicial C3 no sistema 10-20 de EEG. Após isso, a direção e orientação ótimas da bobina foram avaliadas, e a localização e orientação ótimas foram marcadas no couro cabeludo com uma caneta lavável para garantir a constância no posicionamento da bobina durante a visita. Os protocolos de estimulação foram programados usando o software SIGNAL 6.04 (Cambridge Electronics Design, Cambridge, Reino Unido). Todos os pulsos de EMT foram elicitados com um intervalo entre tentativas (ITI) de 5 segundos durante todo o experimento.

A eletromiografia (EMG) de superfície foi registrada no músculo primeiro interósseo dorsal (FDI) unilateralmente em uma montagem músculo-tendão, utilizando eletrodos de disco Ag-AgCl. O sinal EMG foi amplificado em 1K (modelo 2024F da Intronix Technologies Corporation, Bolton, Canadá), filtrado (2Hz-2,5KHz) e digitalizado em 5KHz (Micro 1401, Cambridge Electronics Design, Cambridge, Reino Unido) usando o software SIGNAL 6.04. Os sujeitos estavam confortavelmente sentados em uma cadeira e um travesseiro foi colocado sob o braço avaliado para garantir relaxamento e reduzir contrações basais no sinal da gravação muscular. O EMG foi registrado por 490ms antes da estimulação com EMT. Os protocolos de avaliação neurofisiológica incluíram as medidas detalhadas na tabela abaixo:

Tabela 3. Protocolo Neurofisiológico

<p><b>PEM (potencial evocado motor):</b> Registro de EMG do músculo FDI, originado pela EMT sobre o M1 contralateral ao músculo alvo. Quinze registros com intensidade de estimulação definida para produzir PEM de ~ 1 mV na linha de base. O valor final é calculado a partir da mediana desses valores.</p>
<p><b>SI1mV:</b> Intensidade de estimulação necessária para que o EMT produza PEMs de amplitude de 1 mV</p>
<p><b>RMT (Limiar motor):</b> Registro de EMG do músculo FDI determinado como a intensidade mínima do estimulador necessária para elicitar PEMs de 50 <math>\mu</math>V em 5 de 10 ensaios</p>
<p><b>SICI (inibição cortical de intervalo curto):</b> Quinze pulsos pareados contendo estímulo de condicionamento subliminar na intensidade de 80% do limiar motor de repouso (RMT) seguido em 2 ms por um estímulo de teste que evoca PEM de ~ 1 mV (TS) e 15 pulsos simples com TS sozinho, combinação entre os pulsos de forma aleatória. Avaliação da inibição do PEM pelo pulso pareado é realizada pela comparação de amplitudes das respostas de estímulos pareados com a estimulação de pulso único.</p>
<p><b>SICF (facilitação cortical de intervalo curto):</b> Quinze pulsos pareados contendo TS seguido em 1,4ms por estímulo na intensidade do limiar motor de repouso (RMT), randomizado com outros quinze pulsos pareados com TS em 2,2ms por estímulo na intensidade RMT e 15 pulsos TS em ordem aleatória. Avaliação da facilitação do PEM pelo pulso pareado é realizada pela comparação de amplitudes das respostas pareadas com a estimulação de pulso único.</p>

#### 4.3.2 CARACTERIZAÇÃO DO ULTRASSOM

Utilizou-se um transdutor de ultrassom anular customizado com 2 elementos (Sonic Concepts Inc., Bothell, Washington), com uma frequência fundamental de 500 kHz. O transdutor era plano e cilíndrico, com um diâmetro de 38 mm e uma espessura de 10 mm. O ultrassom estava conectado, por meio de um módulo de impedância de 50 $\Omega$ , a um amplificador de radiofrequência controlado por Arduino (Sonic Concepts Inc., Bothell, Washington).

As propriedades do feixe acústico do transdutor usado nesse estudo foram medidas em um tanque de água (Figura 16). A intensidade da forma de onda foi determinada usando uma capsula de hidrofone (HGL-0400, Onda Corp, CA) conectada a um pré-amplificador (AG-2010, Onda Corp, CA). O hidrofone e o transdutor foram colocados em um tanque contendo água purificada. O hidrofone foi montado em uma plataforma robótica (Acoustic Measurement Tank, Acertara, CO). O transdutor foi acionado com uma unidade de acionamento integrada (H246, Sonic Concepts Inc, WA) a uma frequência de 0,5 MHz, com um comprimento focal de 30 mm e uma configuração de potência de  $5\text{W}/\text{cm}^2$ . Os feixes acústicos no plano longitudinal (X,Z) em relação à trajetória de sonicação e a seção transversal no plano focal (X,Y) são ilustrados na Figura 17. O campo acústico na direção longitudinal mostrou um pico de campo próximo a 12 mm e um pico de campo distante a 33 mm (próximo ao comprimento focal de 30 mm).

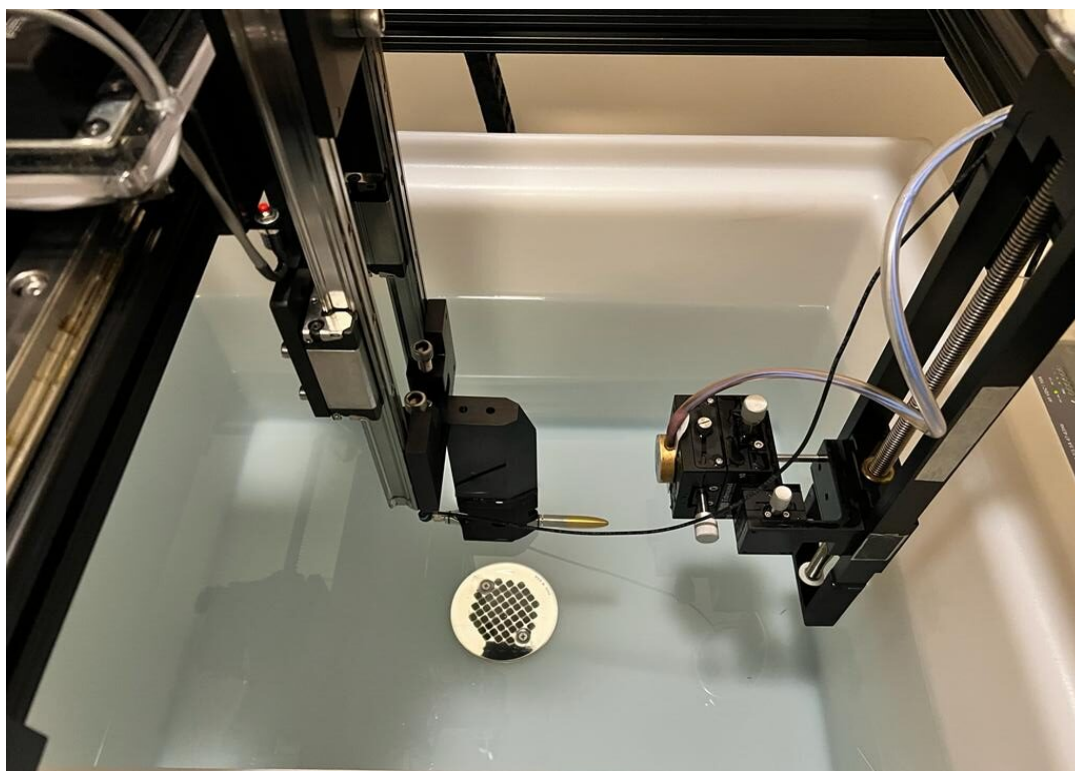


Figura 16. Foto do tanque de água com capsula de hidrofone a esquerda e transdutor do UFBI a direita

Dada a relação linear entre intensidade e potência, a ISPPA e ISPTA em água livre foram medidas a  $5\text{ W}/\text{cm}^2$  e depois escalonadas por um fator de quatro para obter os valores de intensidade desejados a  $20\text{ W}/\text{cm}^2$ . Os valores resultantes em água livre

foram de  $11,73 \text{ W/cm}^2$  para ISPPA e  $1,17 \text{ W/cm}^2$  para ISPTA. No alvo cerebral a uma profundidade de 30 mm, a ISPPA estimada foi de  $2,93 \text{ W/cm}^2$  e a ISPTA foi de  $0,29 \text{ W/cm}^2$ , com base em uma redução de 75% devido ao crânio. Essas intensidades estão consideravelmente abaixo das diretrizes da FDA dos EUA para ultrassom diagnóstico, com limites de exposição para todos os tecidos em ISPPA  $< 190 \text{ W/cm}^2$ , ISPTA  $< 720 \text{ mW/cm}^2$  (U.S. Food and Drug Administration, 2019).

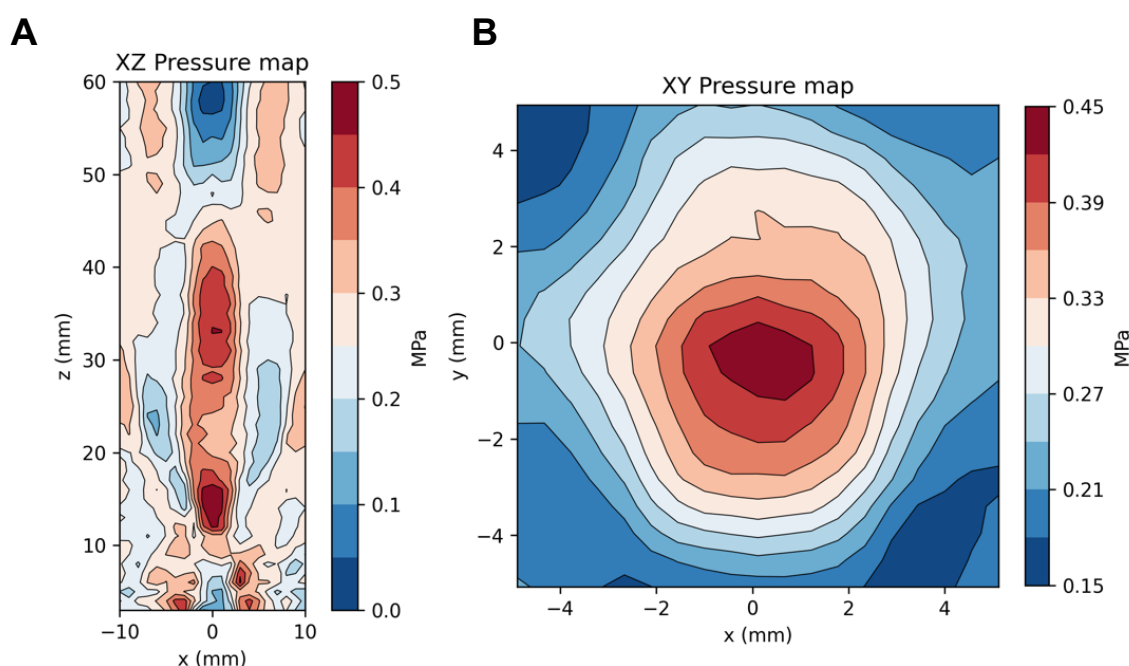


Figura 17. Perfil de intensidade acústica do transdutor de 0,5 MHz com foco de 30 mm medido em água livre. (A) Mapa longitudinal. (B) Seção transversal do feixe acústico no plano focal. Fonte: Elaborado pelo autor

#### 4.4 EXPERIMENTO ONLINE I

Esta parte do estudo foi conduzida para compreender os mecanismos imediatos da estimulação de UFBI sobre o M1 humano. Para isso, foram adotados os protocolos de estimulação de UFBI e EMT do estudo prévio realizado por Fomenko e colaboradores, utilizando os parâmetros de UFBI que produziram os efeitos inibitórios mais significativos (Fomenko et al., 2020b).

#### 4.4.1 PROTOCOLO DE USO ULTRASSOM

O transdutor de UFBI foi acoplado à bobina de EMT usando um suporte personalizado impresso em 3D durante todo o experimento (Figura 12), incluindo para a marcação inicial da localização do 'hotspot' do FDI feita com caneta lavável previamente. Todas as estimulações se iniciaram com uma sonicação de duração de 500 ms ( $t=0$ ms), sendo que o estímulo de teste de EMT era entregue em  $t=490$ ms. O UFBI foi controlado a partir do software MATLAB. Os parâmetros do UFBI consistiram em uma frequência fundamental de 500kHz, frequência de repetição de pulso (PRF) de 1kHz e um ciclo de trabalho (DC) de 10% utilizados para todas as estimulações. A intensidade real da UFBI foi definida em  $20\text{W}/\text{cm}^2$ , enquanto a UFBI inativa (placebo) foi definida em  $0\text{W}/\text{cm}^2$ .

A profundidade da sonicação foi definida em 30 mm para aproximar a distância do couro cabeludo ao córtex do M1. Os registros de UFBI-EMT reais e placebo foram realizadas em um design de blocos, que consistiam subsequentes impulsos utilizando UFBI  $0\text{W}$  intercalados por subsequentes impulsos com UFBI  $20\text{W}$ , a ordem dos blocos de impulsos  $0$  ou  $20\text{W}$  foi randomizada durante a visita e entre sujeitos. Lâminas de gel de ultrassom com diâmetro de 40 mm e espessura de 1,5 mm foram colocadas entre a face do transdutor e o couro cabeludo do sujeito. Além disso, uma pequena quantidade de gel de ultrassom foi aplicada sobre a localização do "hotspot" no couro cabeludo.

Para mascarar a estimulação ativa de UFBI, adotamos o protocolo de mascaramento sonoro utilizado em um estudo anterior, visto que os autores relataram que a percepção da UFBI ativa era eliminada usando esse método (Braun et al., 2020). O mascaramento sonoro utilizou uma onda quadrada de 1kHz que era reproduzida por fones de ouvido a partir de 100 ms antes da sonicação e durava 100 ms após a sonicação (Figura 18). A emissão do som era controlada pelo MATLAB e foi incorporada ao script da UFBI. O volume foi ajustado determinando o volume máximo que não era desconfortável para os participantes.

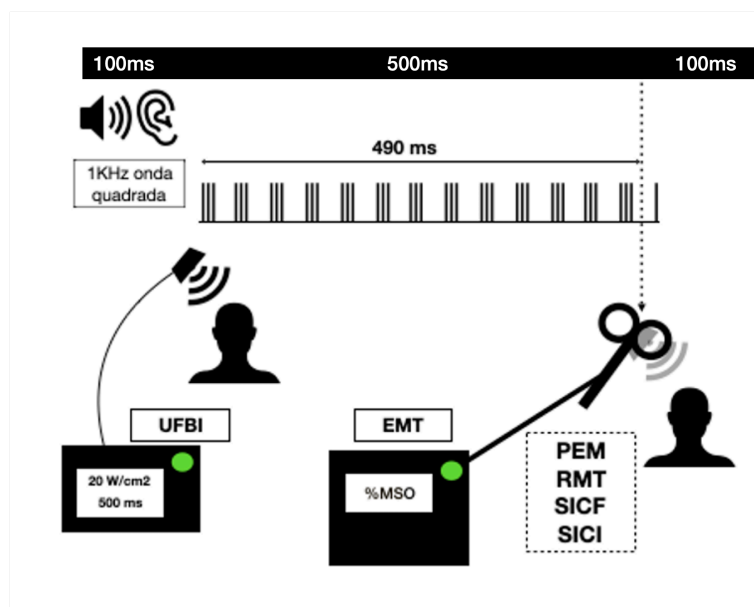


Figura 18. Representação esquemática do protocolo *online* ativo. %MSO: Porcentagem de estimulação máxima ; EMT: Estimulação magnética transcraniana; PEM: Potencial evocado motor; RMT: limiar motor em repouso; SICI: Inibição intracortical de curta duração ; SICF: Facilitação intracortical de curta duração; UFBI Ultrassom focal transcraniano de baixa intensidade; Fonte: Elaborada pelo autor

#### 4.4.2 ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA

A intensidade do estimulador de EMT necessária para elicitar PEMs de 1mV (faixa de 0,5 a 1,5 mV) foi determinada durante o uso de UFBI 0W/cm<sup>2</sup>. Blocos de registros de UFBI real ou placebo foram conduzidos com base na ordem de randomização. Primeiro, a amplitude do PEM em repouso foi registrada por 15 ensaios usando a intensidade mencionada acima e em seguida o RMT foi determinado. A intensidade do estimulador para um PEM de 1mV foi então reavaliada para uso na EMT de pulso pareado. Por fim, foram realizados 15 ensaios de SICF1,4, SICF 2,2 e TS em um bloco randomizado de 45 pulsos. E, outro bloco de SICI e TS randomizado em 30 pulsos. Após a conclusão de um bloco, o próximo bloco foi gravado da mesma maneira, com a única diferença sendo a estimulação ativa versus placebo de UFBI.

#### 4.5 EXPERIMENTO ONLINE II

Foi realizado um experimento para examinar os possíveis efeitos de fatores auditivos na excitabilidade cortical motora. Essa análise envolveu a administração de diferentes estímulos sonoros, associados ou não ao uso de UFBI em M1.

Os parâmetros do UFBI foram idênticos aos utilizados no experimento online I, consistiram em PRF de 1KHz e DC de 10% utilizados para todas as sonicações. A intensidade real da UFBI foi definida em 20W/cm<sup>2</sup>, enquanto a UFBI inativa (placebo) foi definida em 0W/cm<sup>2</sup>. A profundidade da sonicação foi definida em 30 mm para aproximar a distância do couro cabeludo ao córtex do M1.

Os estímulos auditivos tiveram duas durações diferentes, de 500 ou 700 ms. A primeira se limitou ao exato tempo de sonicação com UFBI e a segunda começava 100 ms antes da aplicação do UFBI e se estendia até 100ms após. Ambas as durações foram apresentadas em dois tons diferentes. Para produzir esses estímulos auditivos, utilizamos um gerador de sinal (Agilent 33220A, Keysight Technologies) para emitir um tom de onda senoidal de 12 kHz por meio de alto-falantes posicionados à esquerda do participante, seguindo o mesmo protocolo descrito por Fomenko (Fomenko et al., 2020b). O segundo estímulo se caracterizou por um tom de onda quadrada de 1 kHz com pulsos de 500 ms de duração emitido por meio de fones de ouvido com cancelamento de ruído, seguindo o protocolo utilizado no experimento I e descrito previamente e na pesquisa anterior realizada por Braun (Braun et al., 2020).

Primeiramente, foram avaliadas as alterações na excitabilidade cerebral relacionadas unicamente a exposição ao estímulo auditivo. A intensidade do estimulador de EMT necessária para elicitar PEMs de 1mV (faixa de 0,5 a 1,5 mV) foi determinada sem uso de nenhum estímulo, sendo então o valor referencial. Foram coletados 5 blocos de registros de PEM com a mesma intensidade definida anteriormente constituídos por 15 pulsos únicos de EMT utilizando a mesma intensidade. Assim, cada participante recebeu 15 estímulos na condição de referência (apenas EMT) e 15 estímulos associados cada um dos quatro estímulos sonoros (1kHz com 500ms, 1kHz com 700ms, 12kHz com 500ms e 12kHz com 700ms). As condições foram apresentadas em uma ordem aleatória, os participantes estavam sentados em repouso. Foi mantido um intervalo entre tentativas de 5 segundos (Figura 19).

Em seguida, investigamos o efeito da aplicação do UFBI em M1 durante o uso de estímulos auditivos na excitabilidade motora. Para essa análise, ajustamos a

intensidade do EMT para evocar um PEM de aproximadamente 1 mV para cada uma das quatro estimulações sonoras. Para compensar as diferentes intensidades do EMT aplicadas entre a condição de referência e essas condições, calculamos a amplitude relativa do PEM multiplicando a amplitude do PEM coletado pela razão entre a intensidade da EMT utilizada e a intensidade da EMT na condição de referência. Foram coletados 15 PEMs para cada estímulo auditivo, em duas diferentes condições, uma com UFBI placebo ( $0 \text{ W/cm}^2$ ) e a outra com UFBI ativo ( $20 \text{ W/cm}^2$ ), como ilustrado na Figura 19.

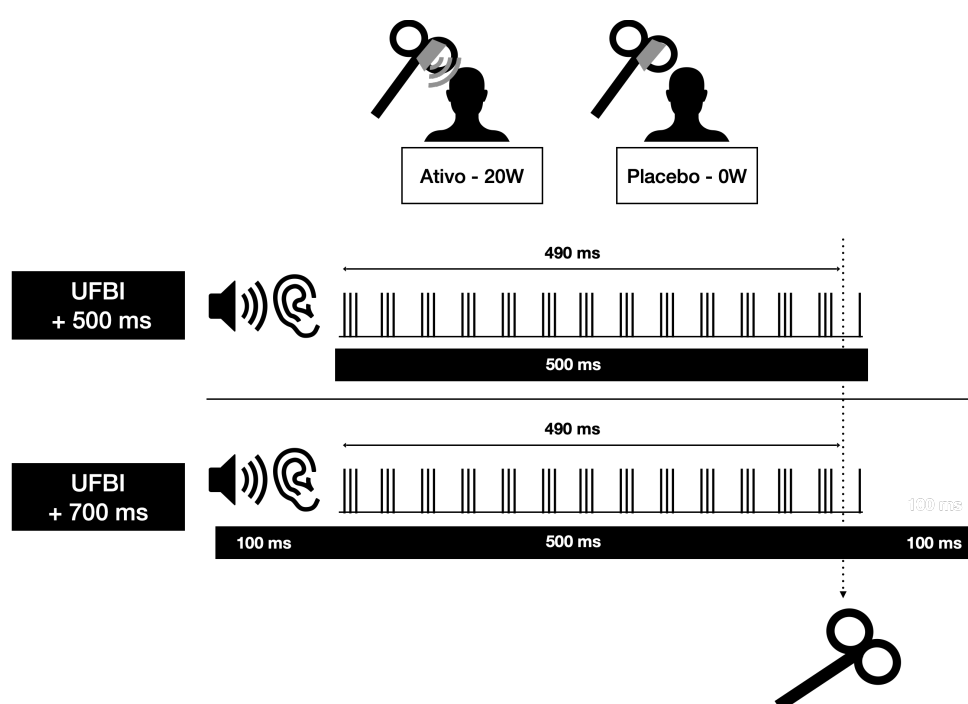


Figura 19. O UFBI ativo ou placebo na topografia de M1 em hemisfério esquerdo em simultâneo com um estímulo auditivo. Os estímulos auditivos foram emitidos em 1 e 12 kHz, com durações de 500 ou 700 ms. A estimulação com UFBI teve duração de 500 ms. O pulso único de EMT foi aplicado em M1 100 ms antes do final do UFBI (ou seja, após 490 ms de UFBI), e na mesma temporização na condição UFBI placebo. Fonte: Elaborada pelo autor.

Lâminas de gel de ultrassom com diâmetro de 40 mm e espessura de 1,5 mm (Aquaflex, Parker Laboratories, NJ, EUA) foram colocadas entre a face do transdutor e o couro cabeludo do sujeito. Além disso, uma pequena quantidade de gel de ultrassom (Wavelength MP Blue, Sabel Med, Oldsmar, FL) foi aplicada sobre a localização do “hotspot” no couro cabeludo. As condições foram apresentadas em

pares de UFBI placebo vs. UFBI ativo para cada tipo de estímulo sonoro, a ordem dos diferentes estímulos auditivos foi aleatória entre os participantes.

#### 4.6 EXPERIMENTO OFFLINE

Os pacientes com DP iniciaram o experimento com a avaliação da mUPDRS. Medimos a excitabilidade do córtex motor basal usando EMT com registro de PEM de repouso de 1mV, SICF e SICI. Em seguida, os indivíduos receberam 80 segundos de tbUFBI. As amplitudes do PEM, SICF e SICI foram reavaliadas em 5 (T5), 30 (T30) e 60 (T60) minutos após o tbUFBI (Figura 20). Após o T60, os pacientes foram avaliados novamente com a mUPDRS. Exceto pela avaliação clínica, o protocolo foi idêntico para pacientes e controles.

##### 4.6.1 PROTOCOLO DO ULTRASSOM

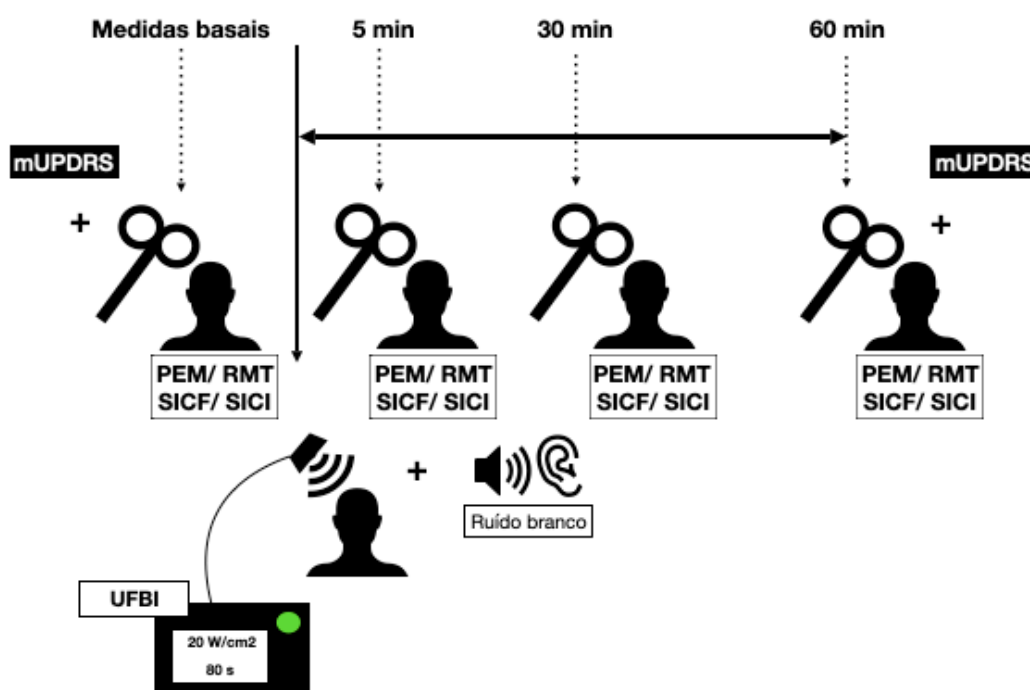


Figura 20. Representação esquemática do protocolo de ultrassom transcraniano *offline*. %MSO: Porcentagem de estimulação máxima; EMT: Estimulação magnética transcraniana; PEM: Potencial evocado motor; RMT: limiar motor em repouso; SICI: Inibição intracortical de curta duração ; SICF: Facilitação intracortical de curta duração; UFBI Ultrassom focal transcraniano de baixa intensidade; Fonte: Elaborada pelo autor

Aplicamos gel de ultrassom (Gel de Ultrassom Multiuso Wavelength MP Blue, Sabel Med, Oldsmar, FL) no transdutor com cautela para garantir que não houvesse bolhas de ar antes de colocá-lo no couro cabeludo. O transdutor foi posicionado sobre o “hotspot” FDI do participante, previamente determinado usando EMT e marcado no couro cabeludo utilizando caneta lavável. Os parâmetros consistiram em um trem de pulsos de 80 segundos, duração de pulso de 20 ms, intervalo de repetição de 200 ms, frequência fundamental de 500 kHz, PRF de 5 Hz, DC de 10% e intensidade de 20W/cm<sup>2</sup>. A profundidade da sonicação foi definida em 30 mm, que é o valor aproximado da distância do couro cabeludo ao córtex do M1. As configurações foram as mesmas dos estudos anteriores realizados no laboratório (Samuel et al., 2022; Zeng et al., 2022). Para mascarar os efeitos auditivos do tbTUS, fornecemos ruído branco aos participantes por meio de fones de ouvido durante o tempo de sonicação (80 segundos) com intensidade de 50 a 70% do volume máximo (com base na tolerabilidade de cada paciente).

#### **4.6.2 ESTIMULAÇÃO MAGNÉTICA TRANSCRANIANA**

Utilizamos uma bobina de EMT em formato de oito com 70 mm, conectada a dois estimuladores Magstim 2002 (Magstim, Whitland, Dyfed, Reino Unido) para realizar EMT monofásica. A posição da bobina sobre o M1 que produziu a maior resposta do FDI com a bobina inclinada em um ângulo de aproximadamente 45° em relação à linha médio-sagital foi determinada a partir do referencial C3 do sistema 10-20 de EEG e denominada “hotspot”. A direção da corrente induzida no cérebro era posterior-anterior (PA) e aproximadamente perpendicular ao sulco central. A posição ideal da bobina foi marcada no couro cabeludo para garantir uma localização consistente da estimulação ao longo do estudo. O RMT foi definido como a menor intensidade de estimulação necessária para gerar PEMs com amplitude de pelo menos 50  $\mu$ V em pelo menos 5 dos 10 ensaios consecutivos. Após a determinação do RMT, avaliamos o SICI, seguido do SICF. Os pulsos de EMT foram administrados com um ITI de 5 segundos.

O protocolo de SICI consistiu em um estímulo condicionante subliminar seguido por um estímulo teste supra limiar 2 ms depois. Para o estímulo condicionante do SICI, utilizamos 80% do RMT. A intensidade do estímulo teste foi ajustada para evocar uma

amplitude de PEM de aproximadamente 1 mV em repouso. Foram realizados 15 ensaios de estímulos pareados e 15 ensaios de estímulo teste isolado, em ordem aleatória.

O protocolo de SICF consistiu em um primeiro estímulo supra limiar (S1) seguido por um segundo estímulo subliminar (S2). Para examinar o primeiro pico e vale do SICF, avaliamos o SICF com intervalos interestímulos de 1,4 e 2,2 ms. A intensidade do S1 foi ajustada para evocar uma amplitude de PEM de aproximadamente 1 mV em repouso, seguida em 1,4 ou 2,2 ms pelo S2 com intensidade de 100% do RMT. Foram realizados 15 ensaios de SICF a 1,4 ms, 15 ensaios de SICF a 2,2 ms e 15 ensaios de estímulo teste isolado, em ordem aleatória.

#### **4.7 ANÁLISE DOS DADOS**

Em ambos os protocolos, registros com EMG com amplitude de pico a pico superior a 0,1 mV nos 150 ms que antecedem o pulso de EMT foram excluídos da análise. As amplitudes do PEM foram medidas de pico a pico. A amplitude do PEM para cada ensaio de SICI e SICF foi expressa como uma razão em relação à média da amplitude do PEM apenas com o estímulo teste isolado. A mediana da razão do PEM para cada condição (SICI, SICF 1,4 e SICF 2,2) foi então obtida.

No protocolo *offline*, a fim de quantificar a magnitude da plasticidade induzida pelo tbUFBI, foi calculada a razão T30 PEM a partir a divisão do valor mediano de PEM em T30 pelo valor mediano de PEM na linha de base. Para avaliar os efeitos do tbUFBI em diferentes sintomas motores da DP, as pontuações do mUPDRS obtidas a partir do avaliador cego para a condição (basal ou T60) foram divididos em 3 subpontuações: tremor (itens 20 e 21), bradicinesia (itens 19, 23, 24, 25, 26 e 31) e sinais axiais (itens 18, 27, 28, 29 e 31) (Lewis, 2005).

#### **4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Utilizou-se o software de código aberto Jamovi (Versão 1.6.23.0; Jamovi, 2021) para as análises estatísticas. O nível de significância alfa foi estabelecido em  $p < 0,05$

e as comparações pareadas foram corrigidas para múltiplas comparações usando o método de Bonferroni.

#### 4.8.1 ONLINE

##### 4.8.1.1 Experimento I

Para a amplitude do PEM, SICF e SICI, foram determinados os valores medianos para cada condição de UFBI (ativo, placebo). Foram realizadas comparações pareadas usando o teste de Wilcoxon entre as duas condições em cada grupo (DP-ON, DP-OFF e controles) a fim de avaliar o efeito do ultrassom 0W/cm<sup>2</sup> comparado com 20W/cm<sup>2</sup>.

Modelos lineares mistos (LME) com efeitos principais de UFBI *online* (ativo, placebo), grupo [(DP-OFF vs. controle), (DP-ON vs. controle) e (DP-OFF vs. DP-ON)] foram conduzidos para avaliar o efeito do UFBI *online*, do grupo e da possível interação entre esses dois fatores na amplitude dos PEMs, SICI e SICF. Um intercepto aleatório foi utilizado para levar em consideração o pareamento das amostras, pois essa é descrita como a abordagem ideal para amostras não independentes (Cnaan et al., 1997; Detry & Ma, 2016).

##### 4.8.1.2 Experimento II

Foram realizadas comparações pareadas usando o teste de Wilcoxon entre intensidade utilizada pelo EMT para gerar um PEM de 1mV (SI1mV) na condição apenas EMT em comparação os demais estímulos sonoros na ausência de UFBI. Para a amplitude do PEM foram determinados os valores medianos para cada condição.

LME com intercepto aleatório com efeitos principais de duração do estímulo sonoro (500ms vs. 700ms) e tipo de estímulo sonoro (1kHz vs. 12kHz) foram conduzidos para avaliar o efeito da duração, do tipo de estímulo e da possível interação entre esses dois fatores na redução de amplitude dos PEMs comparado ao valor basal. Ademais, LME com intercepto aleatório foi utilizado para avaliar a

influência do UFBI na amplitude dos PEMs, os fatores incluídos foram UFBI (ativo/placebo), duração do estímulo sonoro (500ms, 700ms) e tipo de estímulo sonoro (1kHz vs. 12kHz).

#### **4.8.2 OFFLINE**

##### **4.8.2.1 Experimento I**

Para a amplitude do PEM, SICF e SICI, foram determinados os valores medianos para cada ponto no tempo (Linha de base, T5, T30, T60). Foram realizadas comparações pareadas usando o teste de Wilcoxon entre a linha de base e cada um dos outros pontos no tempo em cada grupo (DP-ON, DP-OFF e controles) individualmente, a fim de avaliar o efeito do tempo para todas as medidas, incluindo PEM, SICF 1,4, SICF 2,2, SICI, RMT e SI 1mV. Uma subanálise do PEM foi realizada para levar em conta os efeitos das discinesias induzidas por levodopa (LID) no grupo DP-ON versus DP-OFF, dividindo-os em com (DP-ON-L) ou sem (DP-ON-NL) LID. Foram considerados pacientes com LID aqueles que apresentaram movimentos discinéticos durante o experimento ou que relataram apresentar movimentos discinéticos pelo menos uma vez por dia incluindo durante o início, pico ou final do efeito terapêutico da levodopa (Espay et al., 2018).

LME com intercepto aleatório foi utilizado para avaliar os efeitos principais de tempo (T5, T30 e T60), grupo [(DP-OFF vs. controle), (DP-ON vs. controle) e (DP-OFF vs. DP-ON, 19 pacientes)] e a interação entre esses fatores para todas as medidas após tbUFBI. Se o LME mostrasse um efeito significativo de interação entre tempo e grupo, testes post-hoc de Wilcoxon ou Mann-Whitney eram realizados para comparar os valores pós-tbUFBI entre os grupos. Para avaliar o efeito das LID, considerou-se a sua presença ou ausência como um outro fator para o LME com efeitos principais de LID (DP-ON-L, DP-ON-NL), grupo (DP-ON, DP-OFF), tempo (T5, T30 e T60) e a interação entre eles.

O RMT, SI1mV, SICF e SICI na linha de base do grupo de controle vs. os grupos DP-ON e DP-OFF foram comparados usando o teste U de Mann-Whitney. As medidas

de EMT e os escores mUPDRS na linha de base para os grupos DP-ON e DP-OFF foram comparados usando o teste de classificação de Wilcoxon. A pontuação do mUPDRS e as subpontuações foram comparados entre a linha de base e T60 para cada grupo DP (ON e OFF) usando o teste de Wilcoxon. O teste de Spearman foi utilizado para realização de correlações entre as medidas basais de mUPDRS e Hoehn e Yahr com a razão T30 PEM.

#### 4.8.2.2 Experimento II

Para avaliar a influência no estágio da doença na plasticidade induzida no grupo OFF, foi realizada uma subanálise incluindo o grupo DP-OFF, controles e o grupo DP-denovo. Para a amplitude do PEM, SICF e SICI, foram utilizados os valores medianos para cada ponto no tempo (Linha de base, T5, T30, T60) após transformação com raiz quadrada.

LME com intercepto aleatório foi utilizado para avaliar os efeitos principais de tempo (linha de base, T5, T30 e T60), grupo [(DP-OFF vs. *denovo*), e a interação entre esses fatores. Se o LME mostrasse um efeito significativo de interação entre tempo e grupo, testes post-hoc de Wilcoxon ou Mann-Whitney eram realizados para comparar os valores pós-tbUFB1 entre os grupos.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 ESTUDO ONLINE

#### 5.1.1 EXPERIMENTO *ONLINE* I

Os dados clínicos dos 8 pacientes estão resumidos na Tabela 4. Os controles incluíram 12 indivíduos, sendo 5 do sexo feminino, a média de idade foi de 66,6 anos com desvio padrão de 9,7 anos. A idade (teste U de Mann-Whitney,  $p=0,351$ ) e o sexo (teste exato de Fisher,  $p=0,460$ ) não apresentaram diferenças significativas entre os pacientes e os controles.

As pontuações do mUPDRS (Tabela 4) foram avaliadas por um especialista em distúrbios do movimento que não participou dos experimentos, e estava cego em relação à condição do paciente (ON vs. OFF).

Tabela 4. Características clínicas dos pacientes com DP estudados.

	Idade (anos)	Sexo	Tempo doença (anos)	H&Y	Lado	UPDRS OFF	UPDRS ON	Medicação	LED (mg/dia)	LID
1	64	M	13	1,5	D	15	11	AMA, L-Dopa, PRA	925	Sim
2	68	M	13	2	E	21	20	L-Dopa	525	Não
3*	54	M	4	1	D	18	16	L-Dopa	450	Não
4*	69	F	1	2,5	E	20	14	L-Dopa, SEL	400	Não
5*	45	M	8	2	E	12	12	L-Dopa	300	Não
6*	64	M	2	1,5	D	5	5	L-Dopa	600	Não
7	53	M	5	1	E	7	4	L-Dopa	525	Não
8	65	M	9	2,5	D	23	22	L-Dopa, RAS	400	Sim
Média ± SD	60,25 ± 8,5		6,9±4,6	1,8±0,6		18,7 ±6,6	15 ± 6,4		516 ± 189,9	

LED= Dose equivalente de Levodopa. Cálculo LED 100 mg de levodopa = 133 mg de levodopa liberação controlada = 303 mg de entacapone = 100 mg de amantadina = 1 mg de pramipexol = 5 mg de ropinirol = 3.3 mg de rotigotina = 10 mg de selegilina. AMA = amantadina; ENT= entacapone; F = feminino; E = esquerda; L-dopa = levodopa; LID = Discinesia induzida por Levodopa; M = masculino; PRA = Pramipexol; D = direito; ROT = Rotigotina SD = desvio padrão; SEL = selegilina; TRI=trixifenidil; UPDRS = Escala Unificada de Avaliação da DP; H&Y= Hohn e Yahr. \* Pacientes testados no lado menos afetado

Essa análise foi realizada por meio de vídeo e não incluiu o componente de rigidez. As pontuações foram maiores no grupo DP OFF (do que no grupo DP ON (teste de Wilcoxon,  $p=0,036$ ). A medicação de cada paciente foi descrita como dose equivalente de levodopa (Jost et al., 2023).

#### 5.1.1.1 MEDIDAS BASAIS NA CONDIÇÃO 0W

A medida na condição 0W foram consideradas as medidas de linha de base. RMT 0W não foi significativamente diferente entre controles (  $63,9 \pm 14\%$  média  $\pm$  desvio padrão) e DP-OFF (  $71,7 \pm 12,3\%$ ) ou DP-ON ( $73,8 \pm 7,3\%$ ), ou entre DP-ON e DP-OFF. Além disso, a SI1mV também não diferiu entre os controles ( $75,5 \pm 17,3\%$ ) e DP-OFF ( $83,7 \pm 15,3\%$ ), entre os controles e DP-ON ( $89,0 \pm 11,2\%$ ), ou entre DP-ON e DP-OFF na condição 0W.

Embora os pacientes com DP apresentassem menor inibição medida pelo SICI (controle  $0,42 \pm 0,23$ ; DP-OFF  $0,57 \pm 0,37$ ; DP-ON  $0,90 \pm 0,59$ ), e mais facilitação medida pelo SICF 2,2 ms (controle  $0,92 \pm 0,44$ ; DP-OFF  $1,08 \pm 0,49$ ; DP-ON  $1,4 \pm 1,02$ ), os controles apresentaram maior facilitação no SICF 1,4ms (controle  $3,99 \pm 3,4$ ; DP -OFF  $2,78 \pm 1,88$ ; DP -ON  $2,38 \pm 0,71$ ). Os valores basais (0W) para SICI e SICF 1,4 e 2,2 não foram estatisticamente diferentes entre os grupos.

#### 5.1.1.2 EFEITOS DO UFBI *ONLINE* NO RMT E SI1MV

Para o RMT e SI1mV, o teste de Wilcoxon não mostrou diferença entre a UFBI ativo ou placebo para os grupos (DP-OFF, DP-ON e controles). O LME comparando DP-OFF vs. controles; DP-ON vs. controles e DP-ON vs. DP-OFF para as duas variáveis (RMT e SI1mV) não mostrou efeito principal significativo de UFBI, grupo ou interação UFBI x grupo (Tabela 5).

Tabela 5. Limiar motor em repouso (RMT) e intensidade do estímulo para produzir PEM de 1 mV (SI1mV).

RMT			
	Controle	DP- OFF	DP-ON
Placebo (0W)	63,9±13,5	71,7±12,3	73,8±7,3
Ativo (20W)	64,5±14,1	72,0±11,9	74,4±6,4
SI1mV			
Placebo (0W)	75,8±16,7	83,7±15,3	89,0±11,2
Ativo (20W)	75,5±17,9	82,7±14,8	89,0±11,2

RMT e SI1mV são expressos como % da energia utilizada pelo estimulador e média ± desvio padrão.

### 5.1.1.3 EFEITOS DO UFBI ONLINE NAS AMPLITUDES DE PEM

O teste de Wilcoxon mostrou diferença entre as condições Ativo (20W) vs. Placebo (0W) para o grupo DP-ON ( $p=0,031$ ), mas não pra DP-OFF ( $p=0,383$ ) ou controles ( $p=0,187$ ) (Figura 21). O LME para DP-ON em comparação com controles mostrou um efeito significativo do UFBI ( $F=4.347$   $p=0,048$ ), sem efeito de grupo ou da interação UFBI x grupo. O LME para DP-OFF em comparação com controles e LME para DP-ON em comparação ao DP-OFF não mostraram efeito significativo de UFBI, grupo ou interação grupo x UFBI (Figura 21).

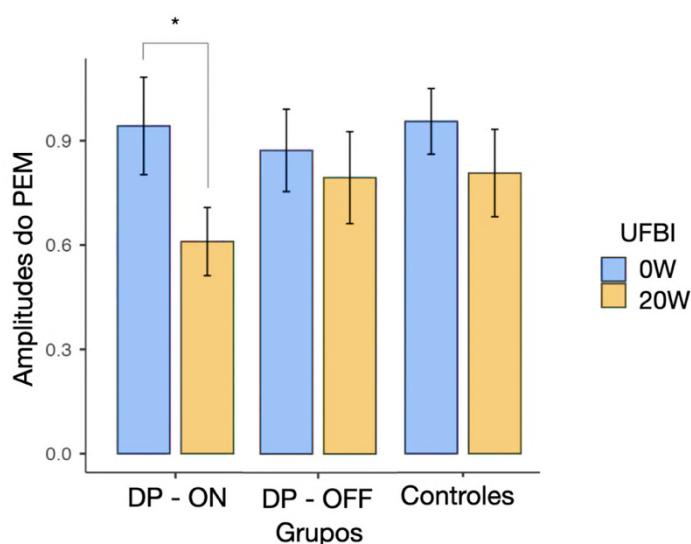


Figura 21. Efeitos do UFBI online na amplitude de PEM em pacientes DP-ON, controles e DP-OFF. Dados de 8 pacientes DP-ON, 8 pacientes DP-OFF e 12 controles. O UFBI online no córtex motor reduziu a excitabilidade do córtex motor medida pela amplitude de PEM evocada por EMT de pulso único com UFBI 20W em comparação ao UFBI 0W no grupo DP-ON. As barras de erro representam o erro padrão. O asterisco representa diferença significativa entre 0W e 20W no grupo DP-ON.

### 5.1.1.4 EFEITOS DO UFBI ONLINE NA SICI E SICF

Ao avaliar a SICI, o teste de Wilcoxon mostrou diferença entre as condições ativo (20W) e placebo (0W) para o grupo DP-ON, mas não para os grupos DP-OFF ou controle. Ao avaliar a SICF 1,4 e 2,2, o teste de Wilcoxon não mostrou diferença entre as condições ativo (20W) e placebo (0W) para os grupos DP-ON, DP-OFF ou controle (Figura 22).

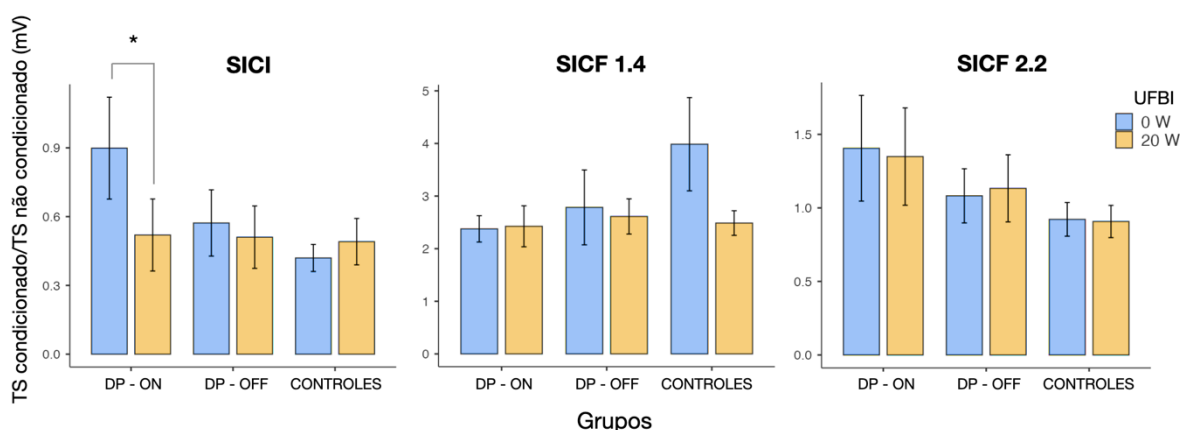


Figura 22. Efeitos do UFBI online na SICI, SICF 1.4 e SICF 2.2 em pacientes DP-ON, controles e DP-OFF. Dados de 8 pacientes DP-ON, 8 pacientes DP-OFF e 12 controles. DP-ON. As barras de erro representam o erro padrão. O asterisco representa diferença significativa entre 0W e 20W no grupo DP-ON.

LME entre DP-ON e controle para avaliar SICI mostrou efeito significativo do UFBI ( $F=6.64$ ,  $p=0,018$ ) e da interação grupo x UFBI ( $F=16.37$ ,  $p<0,001$ ), sem efeito do grupo ( $F=2,46$ ,  $p=0,133$ ). O LME comparando DP-ON vs. DP-OFF mostrou efeito significativo do UFBI ( $F=14.8$ ,  $p=0,001$ ) grupo ( $F=8.31$ ,  $p=0,0009$ ) e da interação entre esses fatores ( $F=7.34$ ,  $p=0,013$ ). O LME comparando DP-ON vs. controles não mostrou efeito significativo do UFBI, grupo ou da sua interação. O LME da SICF 1,4 e 2,2 comparando os grupos DP-ON vs. controle, DP-ON vs. DP-OFF e DP-OFF vs. controles não mostrou efeito do UFBI, do grupo ou da sua interação.

### 5.1.2 EXPERIMENTO ONLINE II

Foram avaliados 16 indivíduos saudáveis, incluindo 8 do sexo feminino, com uma média de idade de 31,4 anos e desvio padrão de 7,9 anos.

### 5.1.2.1 EFEITO DOS ESTIMULOS SONOROS NO PEM

Ao se avaliar o SI1mV, o teste de Wilcoxon com correção de Bonferroni mostrou que os valores de SI1mV foram significativamente mais altos que a referência (sem estímulo sonoro) (média  $\pm$  desvio padrão) de  $73,7 \pm 11,1\%$  em comparação a todas as outras condições com estímulo sonoro, 1 kHz por 500 ms ( $77,4 \pm 9,4\%$ ,  $p=0,008$ ), 1 kHz por 700 ms ( $77,6 \pm 10,1\%$ ,  $p=0,008$ ), 12 kHz por 500 ms ( $76,9 \pm 10,6\%$ ,  $p=0,03$ ) e 12 kHz por 700 ms ( $77,2 \pm 9,8\%$ ,  $p=0,02$ ) (Figura 23).

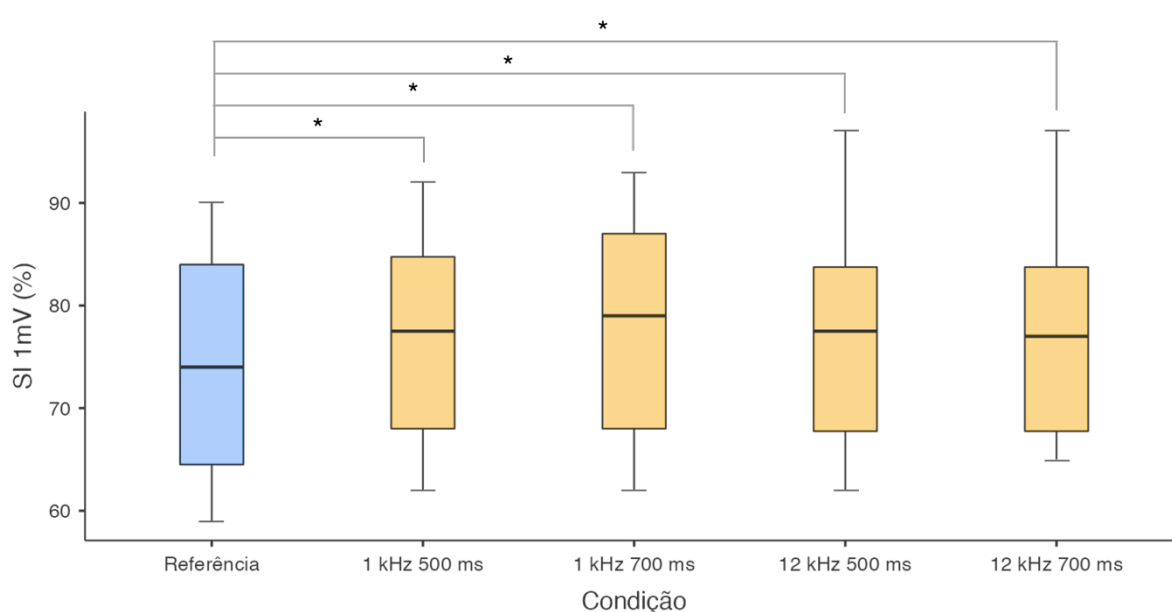


Figura 23. Intensidade utilizada pelo EMT em % para gerar um PEM de 1mV (SI1mV) no estado inicial de referência e durante as quatro condições de estimulação sonora. Cada condição simulada de som exigiu uma intensidade de estímulo significativamente maior do que a linha de base para evocar um PEM de 1 mV. O asterisco representa  $p < 0,05$ . As barras horizontais extremas representam os limites superior e inferior dos dados, as extremidades da caixa representam o percentil 75 (superior) e 25 (inferior). A linha central representa o valor da mediana.

#### 5.1.2.1.1 EFEITO DA DURAÇÃO DO ESTÍMULO SONORO NO PEM

Um LME com os fatores 'duração' (500 vs. 700 ms) e 'frequência' (1 vs. 12 kHz) revelou PEMs significativamente mais baixas com uso de estímulos auditivos de 500 ms (duração:  $p = 0,017$ ; frequência:  $p = 0,878$ ; interação:  $p = 0,156$ ), ratificando o papel da duração do estímulo auditivo na alteração da amplitude do PEM (Figura 24).

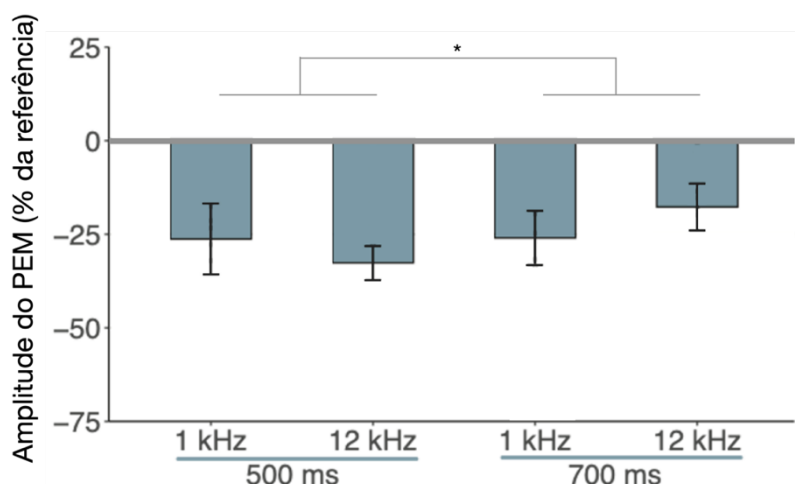


Figura 24. Efeito significativo da duração do estímulo auditivo com maior redução da amplitude do PEM com estímulos com duração de 500ms em comparação ao de duração de 700ms. As barras de erro representam o erro padrão. Asterisco representa  $p < 0,05$ .

#### 5.1.2.2 EFEITO DO UFBI *ONLINE* NO PEM

Um LME com os fatores 'duração' (500 vs. 700 ms), 'frequência' (1 vs. 12 kHz) e UFBI (ativo vs. placebo) revelou PEMs com amplitudes significativamente reduzidas após estímulos auditivos com frequência 1kHz (frequência:  $p = 0,010$ ; duração:  $p=0,420$ ; UFBI:  $p = 0,456$ ), evidenciando o papel da frequência do estímulo auditivo na alteração da amplitude do PEM quando analisado em associação com UFBI. Não houve efeito significativo dos UFBI ou duração (Figura 25)

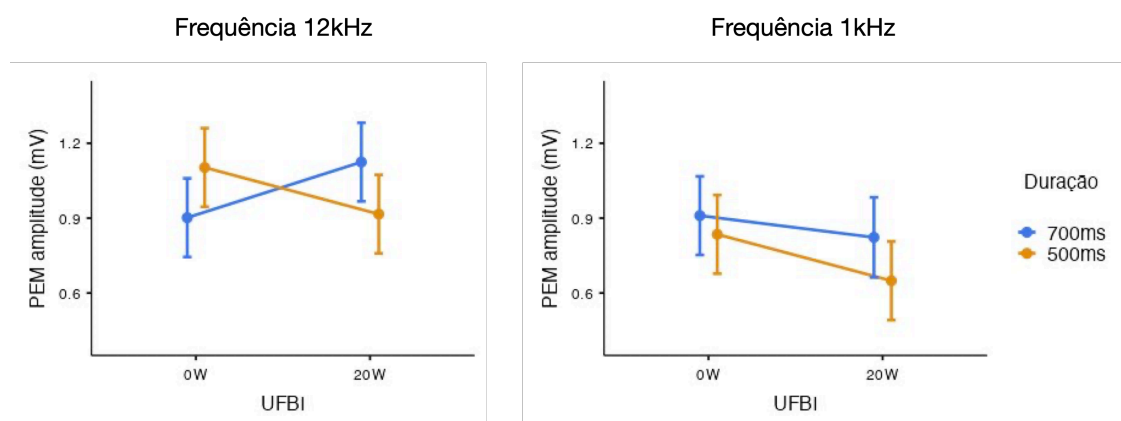


Figura 25. Efeito significativo da frequência do estímulo auditivo com maior redução da amplitude do PEM com estímulos com frequência de 1kHz em comparação ao de 12kHz, sem efeito significativo da duração ou entre o uso de UFBI ativo ou placebo. Barras de erro representam erro padrão

Não houve efeito significativo de UFBI em nenhum dos grupos. Contudo, visualiza-se na Figura 25 que há um comportamento diferente em relação ao uso do UFBI para as diferentes durações em 12 ou 1kHz. Ademais, comparando-se os mascaramentos sonoros utilizados previamente, percebe-se que a redução percentual de PEM entre as condições UFBI ativo e placebo foi maior no grupo 12kHz/500ms que representam o experimento prévio de Fomenko (Fomenko et al., 2020a) (média de  $10 \pm$  erro padrão de 10%) em comparação ao grupo 1kHz/700ms, que reproduz o experimento online I descrito nesse trabalho (média de  $-3 \pm 11\%$ ).

## 5.2 ESTUDO OFFLINE

### 5.2.1 EXPERIMENTO OFFLINE I

Os dados clínicos dos pacientes estão resumidos na Tabela 6. Os 17 controles saudáveis eram compostos de 5 indivíduos do sexo feminino, com média de idade de 63,7 anos e desvio padrão de 9,2 anos. A idade (teste U de Mann-Whitney,  $p=0,117$ ) e o sexo (teste exato de Fisher,  $p=0,460$ ) não apresentaram diferenças significativas entre os pacientes e os controles. As pontuações do mUPDRS no início do estudo (Tabela 6) foram avaliadas por um especialista em distúrbios do movimento que não participou dos experimentos, e estava cego em relação à condição do paciente (ON vs. OFF), a pontuação foi feita por meio de vídeo e não incluiu o componente de rigidez.

As pontuações do mUPDRS foram maiores no grupo DP-OFF do que no grupo DP-ON (teste de Wilcoxon,  $p=0,002$ ). A dose equivalente de levodopa (LED) foi calculada como baseado em estudo publicado por (Jost et al., 2023). Os pacientes com DP com discinesia apresentaram uma dose maior de LED (teste de Mann-Whitney,  $p=0,006$ ) e uma duração da doença mais longa (teste de Mann-Whitney,  $p=0,025$ ) em comparação com os pacientes com DP sem LID.

Tabela 6. Características clínicas dos pacientes com DP estudados.

	Idade (anos)	Sexo	Tempo doença (anos)	Hoehn e Yahr	Lado	UPDRS OFF	UPDRS ON	Medicação	LED (mg/dia)	LID
1	64	M	13	1,5	D	15	11	AMA, L-Dopa, PRA	925	Sim
2*	54	F	10	3	E	39	25	AMA, L-Dopa, ROT	940	Sim
3	68	M	13	2	E	21	20	L-Dopa	525	Não
4*	54	M	4	1	D	18	16	L-Dopa	450	Não
5*	69	F	1	2,5	E	20	14	L-Dopa, SEL	400	Não
6*	45	M	8	2	E	12	12	L-Dopa	300	Não
7*	64	M	2	1,5	D	5	5	L-Dopa	600	Não
8*	67	M	18	3	D	27	20	L-Dopa	1300	Sim
9*	53	M	5	1	E	7	4	L-Dopa	525	Não
10*	69	M	10	1	D	17	11	L-Dopa	450	Não
11*	65	M	9	2,5	D	23	22	L-Dopa, RAS	400	Sim
12	47	M	4	1	D	7	8	L-Dopa	600	Não
13*	50	M	7	2	E	21	21	L-Dopa	300	Não
14*	45	M	5	2	D	NA	26	AMA, L-Dopa, TRI	500	Sim
15*	52	F	3	2	E	14	13	L-Dopa	300	Não
16*	56	F	5	2	D	10	5	L-Dopa	200	Não
17	62	M	4	2,5	D	17	10	AMA, L-Dopa, PRA	850	Sim
18	58	M	3	2	D	26	20	L-Dopa	600	Não
19	69	M	2	2	D	38	25	L-Dopa, PRA	300	Não
20	71	M	8	2	E	23	12	AMA, L-Dopa, ENT	2164	Sim
Média ± DP	59.1± 8,7		7,1±4,4	1,9±0,6		18,7 ±9,4	15 ± 7,0		631 ± 101	

LED= Dose equivalente de Levodopa. Cálculo LED 100 mg de levodopa = 133 mg de levodopa liberação controlada = 303 mg de entacapone = 100 mg de amantadina = 1 mg de pramipexol = 5 mg de ropinirol = 3,3 mg de rotigotina = 10 mg de selegilina. AMA = amantadina; ENT= entacapone; F = feminino; DP = Desvio padrão; E = esquerda; L-dopa = levodopa; LID = Discinesia induzida por Levodopa; M = masculino; PRA = Pramipexol; D = direito; ROT = Rotigotina; SEL = selegilina; TRI= triexifenidil; UPDRS = Escala Unificada de Avaliação da DP. \* Pacientes testados no lado menos afetado

### 5.2.1.1 MEDIDAS BASAIS

A medida de RMT basal não foi estatisticamente diferente entre controles (48,5 ± 11,3%, média ± desvio padrão) e DP-OFF (44,3 ± 7,5%), controles e DP-ON (47,1 ± 9,5%), ou entre DP-ON e DP-OFF. Além disso, a SI1mV também não diferiu entre os controles (58,0 ± 15,4%) e DP-OFF (53,9 ± 11%), entre os controles e DP-ON (56,8 ± 10,1%), ou entre DP-ON e DP-OFF.

Embora os pacientes com DP apresentassem menor inibição medida pelo SICI (controle  $0,43 \pm 0,31$ ; DP-OFF  $0,56 \pm 0,56$ ; DP-ON  $0,78 \pm 1,02$ ) e mais facilitação medida pelo SICF em 1,4 ms (controle  $3,25 \pm 1,60$ ; DP-OFF  $3,23 \pm 2,6$ ; DP-ON  $3,57 \pm 3,9$ ) e 2,2 ms (controle  $1,11 \pm 0,55$ ; DP-OFF  $1,64 \pm 2,43$ ; DP-ON  $1,43 \pm 1,75$ ), os valores SICI e SICF medidos na avaliação basal não foram estatisticamente diferentes entre os grupos.

### 5.2.1.2 EFEITOS DO THETABURST UFBI NO RMT E SI1MV

Para o RMT, o teste de Wilcoxon não mostrou diferença entre a linha de base e T5, T30 ou T60 para os grupos (DP-OFF, DP-ON e controles). O LME comparando DP-OFF vs. controles e comparando DP-ON vs. controles não mostrou efeito significativo de tempo, grupo ou interação tempo x grupo (Tabela 7). As comparações de DP-ON vs. DP-OFF mostraram um efeito significativo do grupo ( $F=4,86$ ,  $p=0,03$ ), sem efeito significativo do tempo ou da interação tempo x grupo (Tabela 7).

Para o SI1mV, o teste de Wilcoxon não mostrou diferença entre a linha de base e T5, T30 ou T60 para os grupos (DP-OFF, DP-ON e controles). O LME comparando DP-OFF vs. controles e comparando DP-ON vs. controles não mostrou efeito significativo de tempo, grupo ou interação tempo x grupo (Tabela 7). LME de DP-ON vs. DP-OFF mostrou um efeito significativo do grupo ( $F=7,56$ ,  $p=0,007$ ), sem efeito significativo do tempo ou da interação tempo x grupo (Tabela 7).

Tabela 7. Limiar motor em repouso (RMT) e intensidade do estímulo para produzir PEM de 1 mV (SI1mV).

<b>RMT</b>			
	<b>Controle</b>	<b>DP - OFF</b>	<b>DP - ON</b>
<b>Linha basal</b>	48,5±11,1	44,3±7,5	47,1±9,5
<b>T5</b>	45,4±9,3	44,8±7,2	47,1±9,9
<b>T30</b>	46,8±9,5	45,2±7,7	46,9±10,0
<b>T60</b>	46,8±10,4	44,8±7,3	47,4±9,7
<b>SI1mV</b>			
<b>Linha basal</b>	58,0±15,4	53,9±11,0	56,8±10,1
<b>T5</b>	56,4±14,7	54,4±10,9	57,1±10,7
<b>T30</b>	57,8±14,6	54,5±10,8	56,9±10,5
<b>T60</b>	58,1±14,3	54,3±10,5	57,3±10,8

RMT e SI1mV são expressos como % da energia utilizada pelo estimulador e média  $\pm$  desvio padrão.

### 5.2.1.3 EFEITOS DO THETABURST UFBI NAS AMPLITUDES DE PEM

Os resultados estão mostrados na Figura 26. O teste de Wilcoxon mostrou diferença entre a linha de base e T30 para os controles ( $p=0,042$ ) e DP-ON ( $p=0,015$ ), mas não para o DP-OFF. O LME para DP-OFF em comparação com controles mostrou um efeito significativo do tempo ( $F=3,68$ ,  $p=0,031$ ), grupo ( $F=5,01$ ,  $p=0,032$ ) e interação tempo x grupo ( $F=3,92$ ,  $p=0,024$ ). A análise *post hoc* de Mann-Whitney comparando DP-OFF T30-PEM e controle T30-PEM mostrou diferença entre ambos ( $p=0,013$ ) (Figura 26).

O LME para DP-ON em comparação com controles mostrou um efeito significativo do tempo ( $F=6,55$ ,  $p=0,002$ ), sem efeito do grupo ( $F=0,09$ ,  $p=0,760$ ) ou interação grupo x tempo ( $F=1,05$ ,  $p=0,357$ ). A análise *post hoc* do tempo mostrou maior amplitude de PEM para T30 em comparação com T60 ( $p=0,002$ ) (Figura 26). O LME de DP-OFF e DP-ON mostrou um efeito significativo do grupo ( $F=5,0$ ,  $p=0,028$ ), com maiores amplitudes de PEM para DP-ON, e nenhum efeito do tempo ( $F=0,861$ ,  $p=0,426$ ) ou interação tempo x grupo ( $F=1,507$ ,  $p=0,227$ ) (Figura 26).

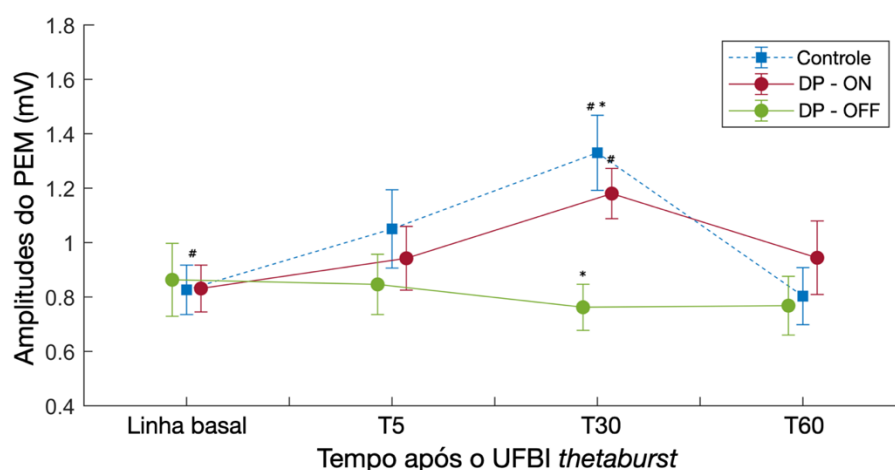


Figura 26. Efeitos do UFBI thetaburst na amplitude do PEM em pacientes DP-OFF, DP-ON e controles saudáveis. Dados de 20 pacientes DP-ON, 19 pacientes DP-OFF e 17 controles. O tbUFBI aplicado no córtex motor aumentou a excitabilidade medida pela amplitude de PEM evocada por EMT de pulso único após 30 minutos de sonicação, demonstrando que o efeito de plasticidade do tbUFBI é preservado em controles saudáveis mais velhos e pacientes DP-ON. as barras de erro representam o erro padrão. Os asteriscos representam diferença significativa entre DP-OFF e controles em T30, e os símbolos de hashtag representam diferença significativa entre a linha de base e T30 para DP-ON e controles.

Uma sub-análise foi realizada para avaliar o efeito das LID, cujos resultados estão na Figura 27. LME comparando DP-ON e DP-OFF adicionando LID como fator não mostrou efeito significativo do tempo, grupo, LID ou das interações tempo x grupo, LID x grupo, LID x tempo ou LID x tempo x grupo (Figura 27).

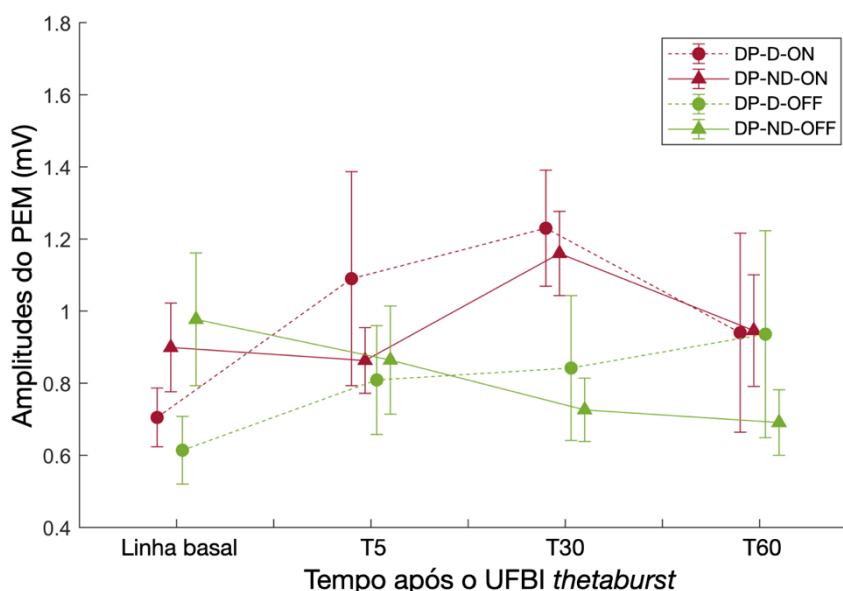


Figura 27. Efeitos do UFBI thetaburst na amplitude de PEM em pacientes com DP-OFF, DP-ON com e sem LID. Dados de 13 pacientes DP-ND-ON, 7 pacientes DP-D-ON, 13 pacientes DP-ND-OFF e 6 pacientes DP-OFF. As barras de erro representam o erro padrão

#### 5.2.1.4 EFEITOS DO *THETABURST* UFBI NA SICI E SICF

Os resultados estão mostrados na Figura 28. Ao avaliar a SICI, SICF 1,4 ou SICF 2,2, o teste de Wilcoxon não mostrou diferença entre a linha de base e T5, T30 ou T60 para os controles, DP-ON ou DP-OFF. O LME avaliando SICI não mostrou efeito do tempo, grupo ou suas interações ao comparar controles com DP-OFF, controles com DP-ON ou DP-OFF com DP-ON. O LME para SICF 1,4 ao comparar controles e DP-ON mostrou efeito do tempo ( $F=8,15$ ,  $p<0,001$ ), sem efeito significativo do grupo ( $F=0,24$ ,  $p=0,628$ ) ou da interação grupo x tempo ( $F=1,16$ ,  $p=0,320$ ). O LME comparando controles vs. DP-OFF e DP-ON vs. DP-OFF não mostrou efeitos do grupo, tempo ou suas interações (Figura 28). O LME avaliando SICF 2,2 não mostrou efeito do tempo, grupo ou suas interações ao comparar controles com DP-OFF, controles com DP-ON ou DP-OFF com DP-ON (Figura 28).

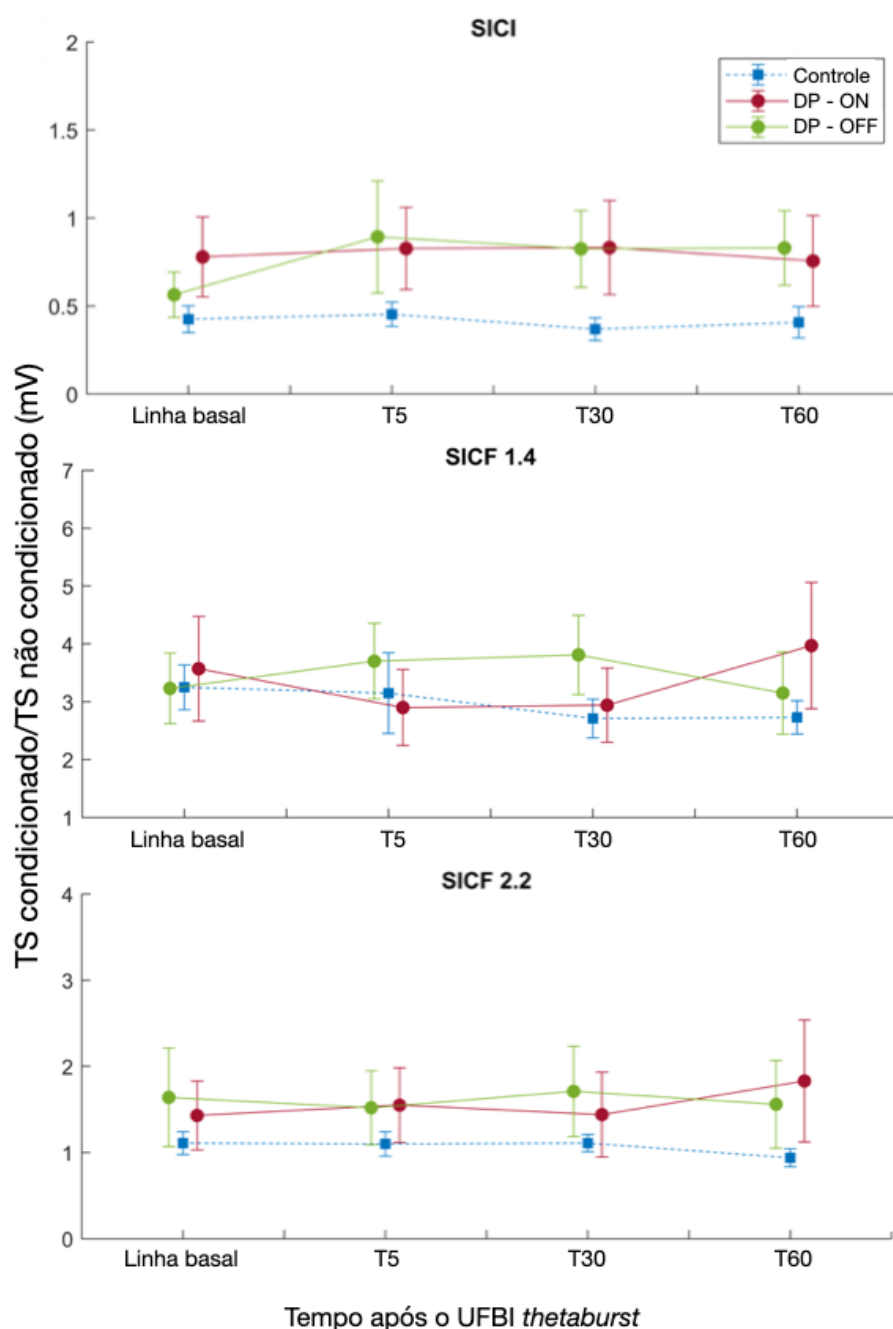


Figura 28. Efeitos do UFBI *thetaburst* em SICI e SICF 1,4 e 2,2. Os valores são representados como a razão das amplitudes de PEM condicionadas para as amplitudes de PEM não condicionadas do estímulo único do TS. Portanto, razões mais altas para a SICI representam menos inibição, e razões mais altas para a SICF representam maior facilitação. As barras de erro representam o erro padrão.

### 5.2.1.5 EFEITOS DO *THETABURST* UFBI NAS PONTUAÇÕES CLÍNICAS

O teste de Wilcoxon mostrou que a pontuação média do mUPDRS não foi diferente entre a linha de base e T60 para os grupos DP-OFF e DP-ON. No entanto,

houve uma diferença significativa na sub pontuação de bradicinesia entre a linha de base ( $10,8 \pm 1,2$ ) e T60 ( $9,5 \pm 1,0$ ) em DP-ON (Wilcoxon,  $p = 0,046$ ), mas não em DP-OFF ( $p = 0,065$ ). As subpontuações para tremor ou sintomas axiais não foram significativamente diferentes entre a linha de base e T60 tanto em DP-ON quanto em DP-OFF (Figura 29).

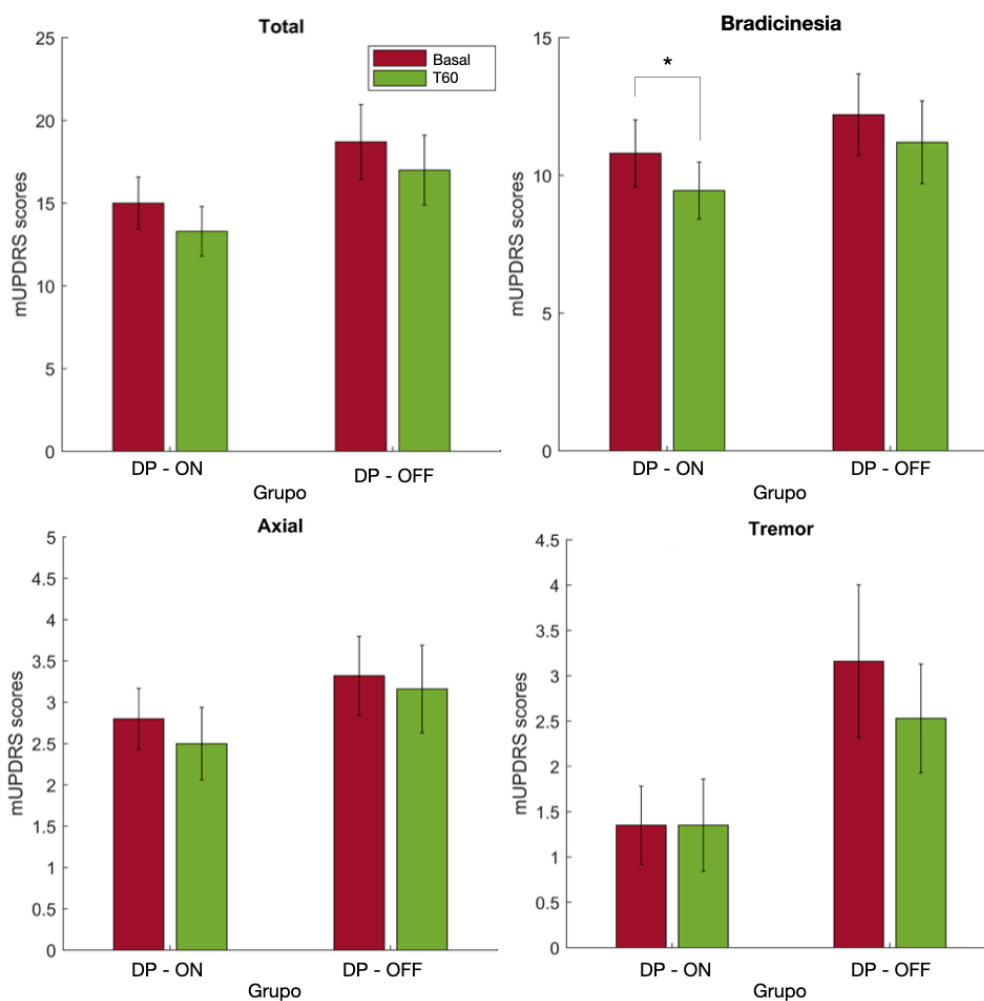


Figura 29. Média das pontuações e subpontuações de mUPDRS. Valores basais e após 60 minutos da aplicação do protocolo *thetaburst* UFBI no córtex motor em pacientes com DP. Dados de 20 pacientes com DP no estado ON e 19 pacientes no estado OFF. A aplicação de UFBI *thetaburst* no córtex motor reduziu as subpontuações de bradicinesia do mUPDRS aos 60 minutos após a sonicação. As barras de erro representam o erro padrão.

#### 5.2.1.6 CORRELAÇÃO ENTRE O EFEITO *THETABURST* UFBI NO PEM E AS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PACIENTES COM DP

O teste de Spearman não mostrou correlação significativa para os grupos DP-ON ou DP-OFF entre a pontuação inicial do mUPDRS e a razão T30 PEM, uma medida de magnitude da plasticidade . Contudo, quando estratificado entre DP-ON com e sem LID, o grupo DP-ND-ON mostrou correlação significativa entre o mUPDRS inicial e a razão T30 PEM ( $r=0,562$ ,  $p=0,037$ ), mas a correlação não foi significativa para o grupo DP-D-ON (Figura 30). Os grupos DP-ND-OFF e DP-D-OFF não apresentaram correlação significativa entre a razão T30 PEM e a pontuação na escala mUPDRS. Não houve correlação significativa entre a pontuação da Escala de Hoehn e Yahr e a razão T30 PEM para os grupos DP-ON ou DP-OFF e os subgrupos estratificados de LID (Figura 31).

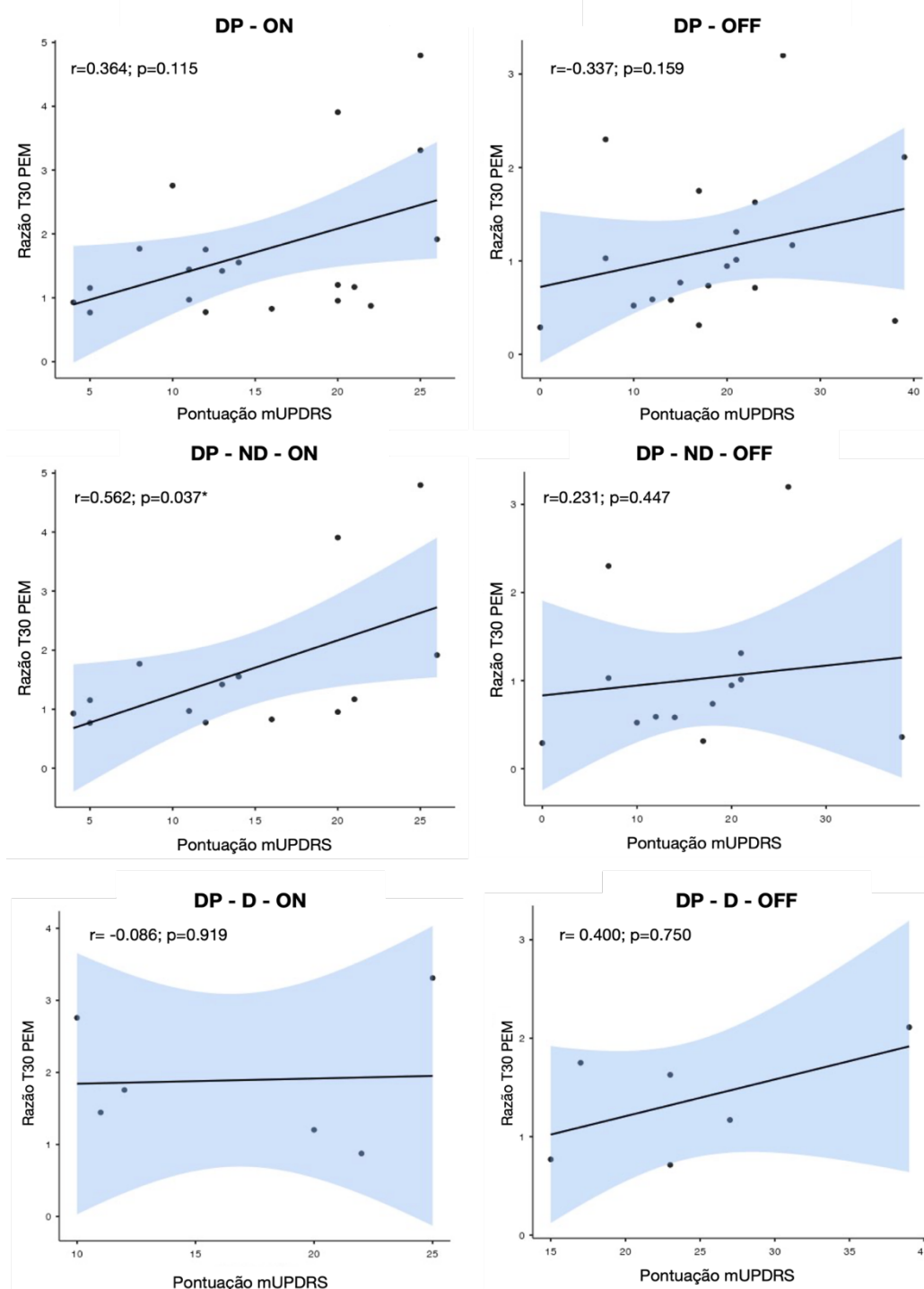


Figura 30. A relação entre a pontuação basal do mUPDRS e a razão PEM 30 minutos após tbUFBI foi avaliada com o teste de correlação de Spearman. Cada ponto representa a medida média de um paciente. Os dados são de 20 pacientes com doença de Parkinson (DP) em estado ON (DP-ON) e 19 pacientes em estado OFF (DP-OFF). Os subgrupos incluem DP-ON, DP-D-ON (n=7) e DP-ND-ON (n=13), DP-OFF, DP-D-ON (n=6) e DP-ND-ON (n=13). A sombra azul representa o erro padrão. O asterisco representa  $p < 0,05$ .

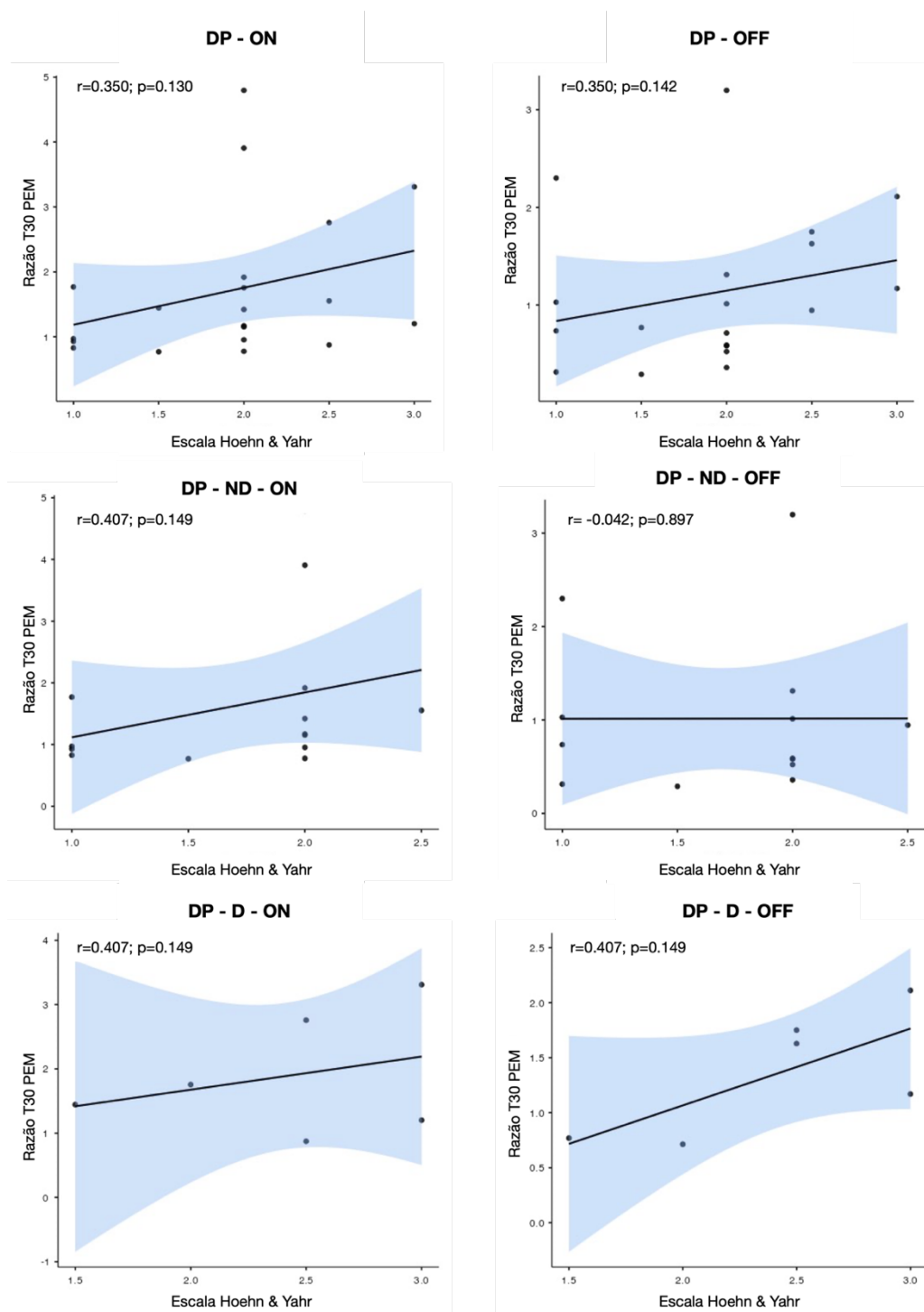


Figura 31. A relação entre a pontuação basal do Hoehn e Yahr e a razão PEM 30 minutos após tbUFBI foi avaliada com o teste de correlação de Spearman. Cada ponto representa a medida média de um paciente. Os dados são de 20 pacientes com doença de Parkinson (DP) em estado ON (DP-ON) e 19 pacientes em estado OFF (DP-OFF). Os subgrupos incluem DP-ON, DP-D-ON (n=7) e DP-ND-ON (n=13), DP-OFF, DP-D-ON (n=6) e DP-ND-ON (n=13). A sombra azul representa o erro padrão. O asterisco representa  $p < 0,05$ .

## 5.2.2 EXPERIMENTO OFFLINE II

Para avaliar a efeito UFBI em pacientes com doença de Parkinson em diferentes estágios de gravidade, foram recrutados 7 pacientes com Parkinson *denovo* para realizar uma análise adicional. Os dados clínicos dos pacientes estão resumidos na Tabela 8. O grupo DP *denovo* foi comparado com 15 pacientes DP-OFF pareados por sexo e idade (descritos na tabela 5 – excluindo-se os pacientes descritos como pelos números 4,6,12,13 e 14). Sendo composto por 4 pacientes do sexo feminino (Fisher's exact test,  $p=0,630$ ), com média de idade de  $62,5\pm 6,5$  anos (Mann-Whitney U  $p=0,323$ ). O grupo DP-OFF apresentou tempo médio de doença de  $7,1\pm 5,0$  anos, média de pontuação na escala Hoehn Yahr de  $2,1\pm 0,7$  e mUPDRS médio de  $13,9\pm 9,8$ . O grupo DP-OFF apresentou maior tempo de doença ( $p=0,003$ ) e maior pontuação na escala de Hoehn Yahr quando comparado ao grupo DP-*denovo* ( $p=0,004$ ) utilizando o teste de Mann-Whitney U, sem diferença significativa entre os dois grupos quanto a pontuação basal do UPDRS.

Tabela 8. Características clínicas dos pacientes com DP *denovo* estudados.

	Idade (anos)	Sexo	Tempo doença (anos)	Hoehn e Yahr	Lado	mUPDRS
21	78	F	2	1	E	18
22	76	F	3	1	E	11
23	56	M	1	1	D	12
24	62	M	1	2	E	19
25	57	M	2	1	E	12
26	70	F	1	1	D	5
27	66	M	1	1	E	20
Média $\pm$ DP	$66,4\pm 8,7$		$1,6\pm 0,8$	$1,14\pm 0,4$		$13,9\pm 5,4$

E= esquerdo; F=feminino; M = masculino; D = direito; DP = desvio padrão; mUPDRS = Escala Unificada de Avaliação da DP parte motora.

### 5.2.2.1 EFEITOS DO THETABURST UFBI NAS AMPLITUDES DE PEM

Os resultados estão mostrados na Figura 32. O LME para DP-*denovo* em comparação ao grupo DP-OFF mostrou um efeito significativo da interação tempo x grupo ( $F=3,19$ ;  $p=0,030$ ), sem efeito significativo de tempo ( $F=1,86$ ;  $p=0,146$ ) ou efeito do grupo ( $F=0,39$ ;  $p=0,538$ ). A análise post hoc de Mann-Whitney U comparando DP-*denovo* T30-PEM e DP-OFF T30-PEM mostrou diferença entre ambos ( $p=0,039$ ) e

não mostrou diferença entre o grupo DP-*denovo* e o grupo controle para T5 ( $p=1,000$ ) ou T60 ( $p=0,919$ ).

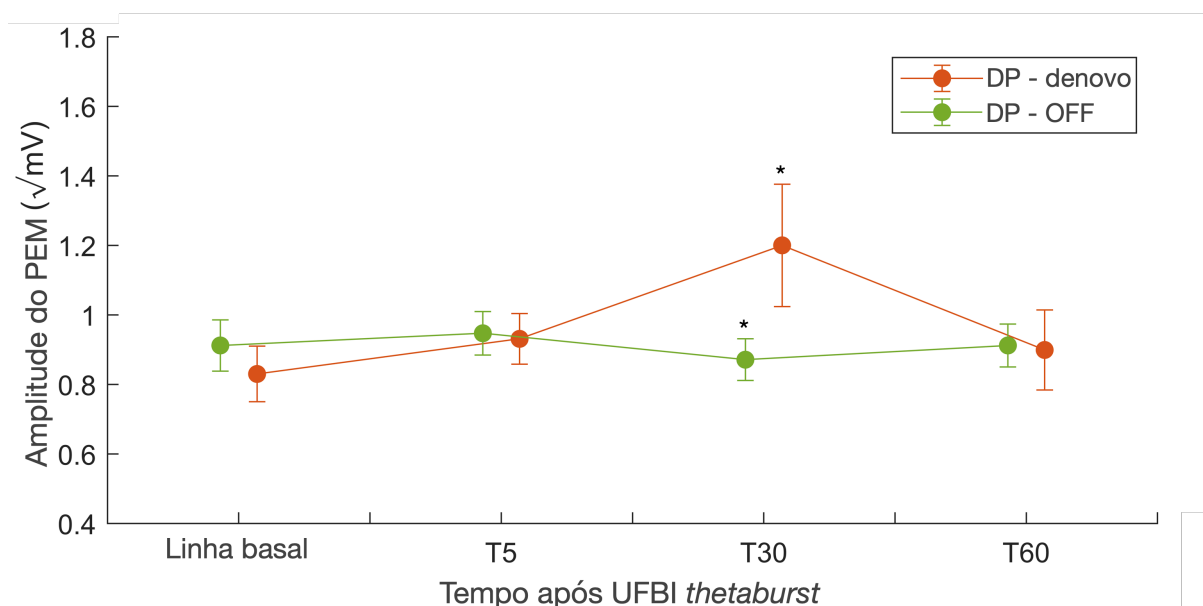


Figura 32. Efeitos do UFBI thetaburst na amplitude do PEM em pacientes DP-OFF e DP-*denovo*. Dados 15 pacientes DP-OFF e 7 pacientes DP-*denovo*. As barras de erro representam o erro padrão. Os asteriscos representam diferença significativa entre DP-OFF e DP-*denovo* em T30.

#### 5.2.2.2 EFEITOS DO THETABURST UFBI NA SICI E SICF

Os resultados estão mostrados na Figura 33. O LME para SICF 1,4 mostrou um efeito significativo da interação tempo x grupo ( $F=6,65$ ;  $p<0,001$ ), sem efeito significativo de tempo ( $F=1,06$ ;  $p=0,375$ ) ou efeito do grupo ( $F=2,39$ ;  $p=0,138$ ). A análise post hoc de Mann-Whitney U comparando DP-*denovo* T60-SICF 1,4 e DP-OFF T60-SICF 1,4 mostrou diferença entre ambos ( $p=0,002$ ) e não mostrou diferença entre o grupo DP-*denovo* e o grupo DP-OFF para T5 ( $p=0,801$ ) ou T30 ( $p=0,831$ ).

O LME avaliando SICF 2,2 não mostrou efeito do tempo ( $F=1,42$ ;  $p=0,248$ ), grupo ( $F=0,14$ ;  $p=0,066$ ) ou suas interações ao comparar DP-OFF com DP-*denovo* (Figura 33). O LME avaliando SICI mostrou efeito do tempo ( $F=4,24$ ;  $p=0,009$ ), mas não mostrou efeito do grupo ( $F=0,48$ ;  $p=0,499$ ) ou suas interações ( $F=1,38$ ;  $p=0,257$ ) ao comparar DP-*denovo* e DP-OFF (Figura 33). A análise *post hoc* do tempo mostrou maior amplitude de SICI para T5 ( $p=0,026$ ) e para T30 ( $p=0,014$ ) em comparação com a linha de base.

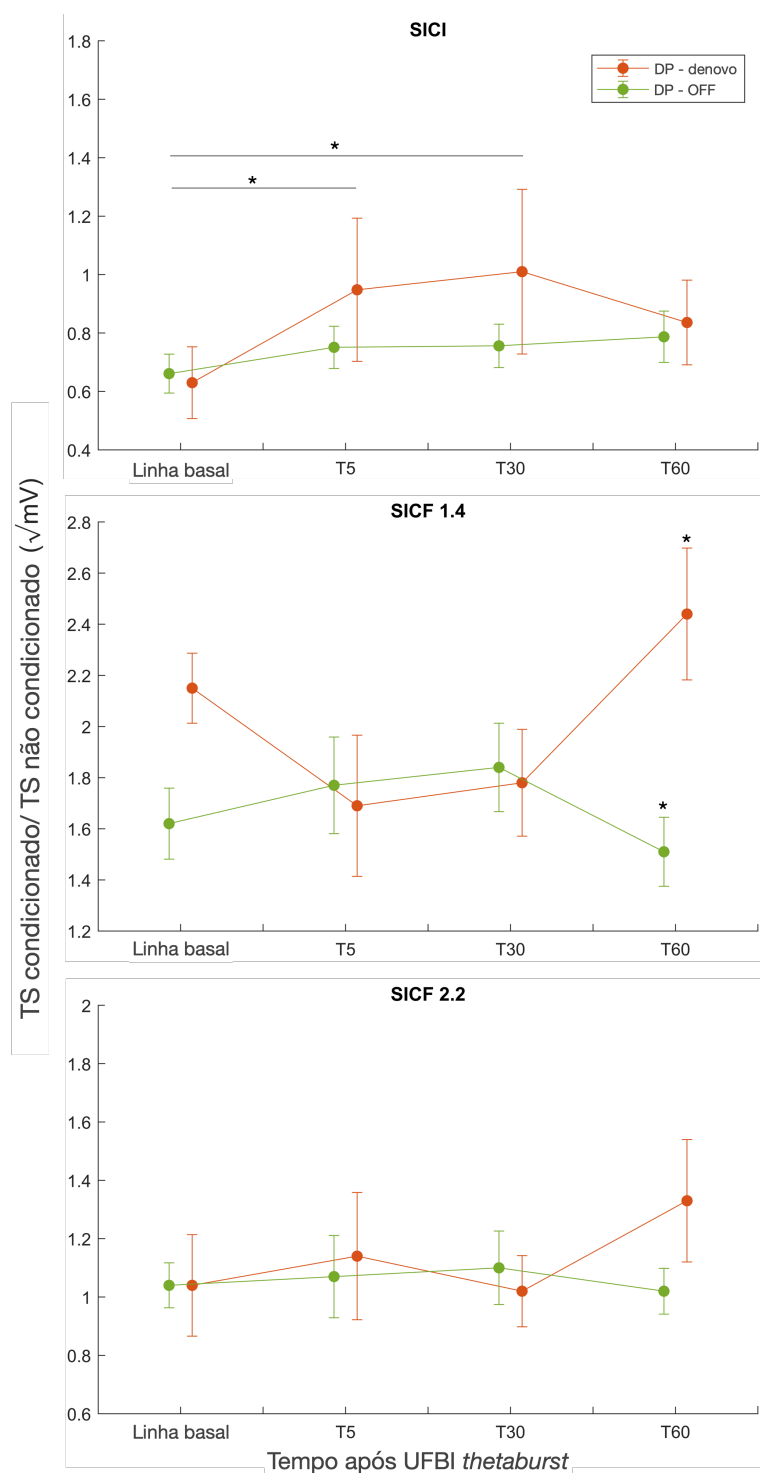


Figura 33. Efeitos do UFBI *thetaburst* em SICI e SICF 1,4 e 2,2. Os valores são representados como a razão das amplitudes de PEM condicionadas para as amplitudes de PEM não condicionadas do estímulo único do TS. Portanto, razões mais altas para a SICI representam menos inibição, e razões mais altas para a SICF representam maior facilitação. As barras de erro representam o erro padrão. Asterisco representa  $p < 0,05$  entre linha basal e T5, linha basal e T30 no gráfico de SICI.

### 5.2.2.3 EFEITOS DO *THETABURST* UFBI NAS PONTUAÇÕES CLÍNICAS DO GRUPO DP-DENOVO

O teste de Wilcoxon mostrou que a pontuação média do mUPDRS não foi diferente entre a linha de base e T60 para o grupo DP-*denovo*. No entanto, houve uma diferença significativa na sub pontuação de bradicinesia entre a linha de base ( $9,6 \pm 1,6$ ) e T60 ( $7,6 \pm 1,4$ ) em DP-*denovo* (Wilcoxon,  $p = 0,041$ ). As sub pontuações para tremor ou sintomas axiais não foram significativamente diferentes entre a linha de base e T60 (Figura 34).

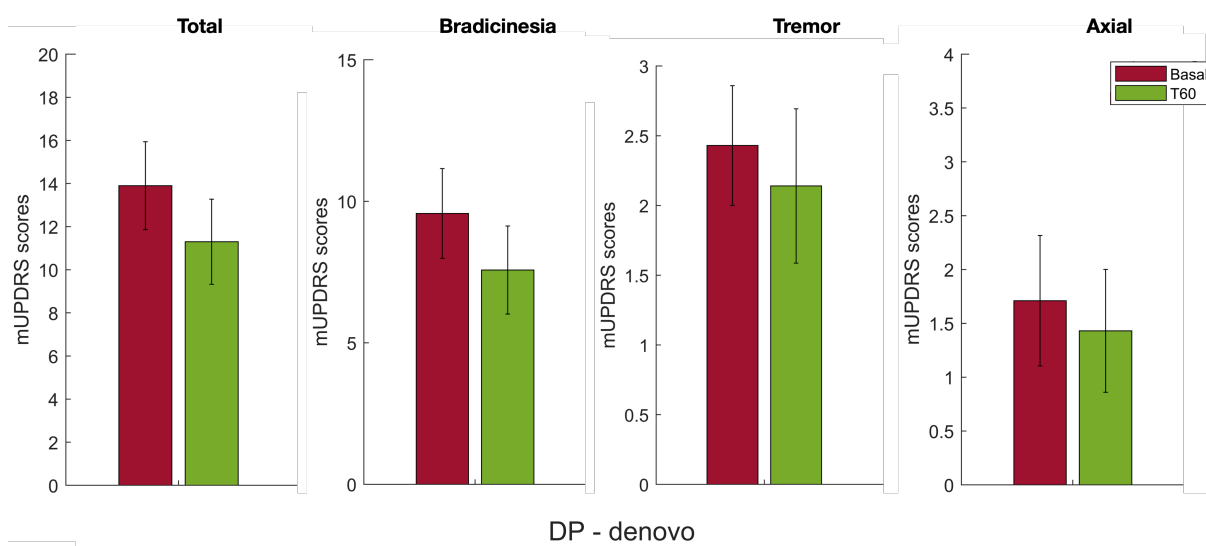


Figura 34. Média das pontuações e subpontuações de mUPDRS. Valores basais e após 60 minutos da aplicação do protocolo *thetaburst* UFBI no córtex motor em pacientes com DP *denovo*. Dados de 7 pacientes. A aplicação de UFBI *thetaburst* no córtex motor reduziu as subpontuações de bradicinesia do mUPDRS aos 60 minutos após a sonicação. As barras de erro representam o erro padrão.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 PROTOCOLO *ONLINE*

Nossos resultados revelaram que o protocolo *online* induziu redução do PEM no grupo de pacientes com DP quando em uso de drogas dopaminérgicas. Contudo, esse achado não foi encontrado no grupo controle ou DP sem uso de droga dopaminérgica. Ademais, houve aumento do mecanismo de inibição mensurado pelo SICl no grupo de DP em uso de medicação dopaminérgica, comparando-se a condição ativa (20W) com a condição placebo (0W). Esse achado não foi reproduzido nos outros dois grupos estudados (controle e DP-OFF). No que tange aos mecanismos de excitabilidade cortical mensurados pela SICF, não se evidenciou alteração significativa em nenhum dos grupos.

O efeito do UFBI *online* nos pacientes DP em uso da medicação dopaminérgica é similar ao que foi descrito em estudos prévios com indivíduos saudáveis. Um dos estudos avaliou 16 indivíduos saudáveis e mais jovens (idade entre 29–59 anos), e mostrou redução do PEM, e aumento do efeito SICl com UFBI *online* (Fomenko et al., 2020b). Outro estudo com 27 indivíduos saudáveis (21 – 44 anos) utilizando o mesmo protocolo *online* também mostrou inibição do PEM (Xia et al., 2021). Um resultado similar de inibição cortical motora ao utilizar o protocolo *online* também foi encontrado em um terceiro estudo com 50 controles jovens (19 – 34 anos) (Legon et al., 2018b).

A amostra do nosso estudo é menor que a dos relatos anteriores, e, esse é um dos fatores que pode explicar a ausência de efeito inibitório com o uso de UFBI *online* em nossos controles saudáveis. Outro fator a ser considerado é a idade média dos controles desse estudo, que é notadamente maior do que nos estudos prévios. Estudos com outras técnicas de neuromodulação não invasiva, como tDCS e EMT, mostraram redução efeito na modulação da excitabilidade cortical com o aumento da idade dos sujeitos (Ghasemian-Shirvan et al., 2022; Málly et al., 2019).

Um outro fator relevante para justificar o resultado negativo encontrado nos controles é a possível variabilidade entre pessoas para resposta a mecanismos de neuromodulação (López-Alonso et al., 2014). O efeito *online* do UFBI pode seguir um

padrão não linear, assim, algumas pessoas seriam mais afetadas pelos parâmetros utilizados do que outras. O comportamento não linear seria um dos substratos da variabilidade de resposta. Soma-se a isso, a possível heterogeneidade na intensidade da estimulação que atinge o córtex, visto que devido à não uniformidade do crânio humano, as ondas de ultrassom podem ser amortecidas ou difratadas (Mueller et al., 2017), e a intensidade final da estimulação pode ser diferente entre sujeitos.

### 6.1.1 EXCITABILIDADE CORTICAL E MECANISMOS DO UFBI *ONLINE*

O mecanismo pelo qual o UFBI altera a excitabilidade cerebral ainda não é completamente compreendido. No caso do protocolo *online*, ele se restringe a adaptações neuronais de curto prazo (Darmani et al., 2022). UFBI *online* é capaz de produzir modulações sublimiares da atividade neural em curso (possivelmente comparável aos efeitos modulatórios sublimiares da tDCS).

Em seu estudo seminal, Legon e colaboradores demonstraram que UFBI com protocolo *online* similar ao utilizado nesse estudo (frequência fundamental = 500 kHz, PRF = 1kHz, DC = 36%, SD = 500ms, PD = 0,36 ms, ISPPA em campo livre = 23,9 W/cm<sup>2</sup>) aplicado de forma focal em S1 pode atenuar a amplitude dos PES e das oscilações corticais induzidas pela estimulação elétrica do nervo mediano. Essa modulação foi acompanhada pela redução nos limiares perceptivos de detecção sensorial (ou seja, melhora no desempenho), conforme medido por tarefas de discriminação de dois pontos. É importante destacar que esses efeitos estavam ausentes quando foi utilizado o UFBI placebo (0W) ou quando o UFBI foi direcionando a regiões cerebrais 1 cm posterior ou anterior a S1, ratificando a hipótese de um efeito neuromodulatório verdadeiro do UFBI *online* no córtex sensorial (Legon et al., 2014).

Posteriormente, foi demonstrado que o UFBI, com o mesmo conjunto de parâmetros utilizados nos experimentos de (Legon et al., 2014), foi capaz de reduzir a amplitude dos PEM induzidos por EMT e atenuar a facilitação intracortical medida por meio de um protocolo de EMT de estímulo pareado (ICF) (Legon et al., 2018a). Estudo posterior variando sistematicamente os parâmetros de sonicação de M1 (frequência fundamental = 500 kHz, PRF = 200, 500, 1000 Hz, DC = 10, 30, 50%, SD

= 0,1-0,5 s, PD = 0,5-0,6 ms, ISPPA em campo livre = 9,26 W/cm<sup>2</sup>), mostrou que o UFBI suprime os PEM de forma mais eficaz em durações de sonicação mais longas e ciclos de trabalho mais curtos (Fomenko et al., 2020b). Estes resultados exemplificam a capacidade de UFBI *online* de reduzir a excitabilidade cortical.

Quanto à distribuição espacial da neuromodulação, um estudo que investigou a aplicação do protocolo *online* em M1, com os mesmos parâmetros empregados no protocolo *online* do presente estudo e a mensuração do PEM utilizando uma bobina de EMT em diversas orientações, sugere que o UFBI atinge predominantemente as células piramidais conectadas aos neurônios corticospinais na área de Brodmann 4p, bem como os axônios desses neurônios corticospinais na área 4p, que mantêm conexões monossinápticas com os motoneurônios espinhais (Arora et al., 2022; Siebner et al., 2022). Neste estudo, a EMT foi aplicada nas orientações PA, lateromedial (LM) e anteroposterior (AP), e evidenciou uma redução do PEM apenas nas direções PA e LM, não em AP. Isso sugere que a UFBI *online* modula a resposta motora ao envolver o circuito direto (D), que inclui o axônio das células piramidais e é preferencialmente ativado na direção PA, e o circuito indireto 1 (I1), que inclui axônios com conexões monossinápticas com as células piramidais, preferencialmente ativados na direção LM. Não houve redução do PEM ao avaliar com a orientação AP, que ativa preferencialmente o circuito indireto 3, indicado pela maior latência de início do PEM, e mediado por um conjunto de neurônios corticais com orientações diferentes daqueles que mediam o circuito I1 (Arora et al., 2022; Sakai et al., 1997).

No que tange ao mecanismo molecular, alguns estudos sugerem o fator mecânico como mecanismo mais proeminente. Um estudo mensurou o deslocamento físico da membrana com o uso do UFBI utilizando membranas bilipídicas sintéticas, o que evidenciou que a força de radiação, ou transferência de momento para a membrana, pode ser responsável pela neuromodulação gerada pelo UFBI (Prieto et al., 2013). Outro estudo recente constatou que os canais iônicos de culturas de células neuronais aumentaram a condutância de potássio em resposta a UFBI (Sorum et al., 2021). Estudos com culturas de células e modelos animais parecem indicar que uma variedade de canais iônicos regula os efeitos neuromodulatórios do ultrassom por meio da perturbação mecânica da membrana. Embora quase todos os canais mecanossensíveis também tenham sido identificados como termossensíveis, o UFBI

aparentemente pode ativar esses canais independentemente de qualquer mudança térmica significativa, o que corrobora a hipótese de seu efeito por fator mecânico (Darmani et al., 2022). Assim, percebe-se que os canais iônicos são possivelmente os atores dos mecanismos de curto prazo do ultrassom na membrana da célula mediado mais provavelmente pelo seu efeito mecânico, que podem gerar redução da excitabilidade da membrana neuronal no caso do protocolo *online*.

### **6.1.2 EXCITABILIDADE CORTICAL E UFBI ONLINE NA DOENÇA DE PARKINSON**

Apesar das avaliações basais (protocolo *online* 0W) dos parâmetros de excitabilidade cortical compostos por RMT, SI1mV, SICF e SICI não terem evidenciado alteração significativa entre controles e pacientes com DP com e sem uso de medicação dopaminérgica, nota-se que os valores de SI1mV e RMT do grupo DP-OFF foram inferiores aos do grupo DP-ON, evidenciando uma possível hiperexcitabilidade no grupo DP que foi reduzida com uso de medicação.

Estudos anteriores indicam que pacientes com DP apresentam alterações na excitabilidade cortical, mensuráveis por meio de EMT. Pesquisas utilizando EMT de pulso único e pulso pareado revelaram mudanças na excitabilidade e nos circuitos corticais na DP, incluindo a diminuição do período silencioso, a redução da SICI, o aumento da SICF, a redução da inibição inter-hemisférica e da inibição cerebelar (Udupa & Chen, 2019b). Um estudo específico destacou que o aumento na excitabilidade em pacientes com DP está associado a uma duração mais prolongada da doença (Bhatia et al., 2003). Além disso, há evidências de que a dopamina desempenha um papel crucial nessas alterações, uma vez que alguns desses parâmetros se normalizam após o uso de medicação dopaminérgica (Cantello et al., 2002). Essa associação é corroborada por estudos em animais que utilizaram antagonistas dopaminérgicos em roedores, evidenciando o papel regulador da dopamina na excitabilidade dos neurônios do córtex motor (Swanson et al., 2021).

Estudos que empregaram a técnica de EMT para induzir neuroplasticidade, especificamente utilizando a forma de inibição cortical motora chamada *thetaburst*

contínuo (cTBS), revelaram uma falta de resposta de inibição do PEM em pacientes com DP que não estavam sob medicação dopaminérgica (Eggers et al., 2010). Resultados de estudos com modelos animais de DP indicam que essa inibição cortical pelo cTBS pode ser restaurada com o uso de dopamina (Guo et al., 2015). Contudo, a literatura apresenta controvérsias nos estudos envolvendo pacientes com DP quanto à restauração da resposta neuromodulatória com o uso de dopamina (Chen et al., 2022). Essa divergência nos resultados provavelmente está relacionada a diversas variáveis clínicas nas coortes investigadas, incluindo o estágio da DP, fenótipo, presença ou ausência de flutuações motoras e LID, além do estado terapêutico dos pacientes em relação ao horário das doses de levodopa, dado a natureza flutuante da DP.

Em linhas gerais, a maioria dos estudos sugere um possível efeito benéfico da levodopa na modulação da resposta a protocolos de neuromodulação em EMT, como TBS e PAS. No entanto, diversos fatores podem contribuir para a heterogeneidade dessas respostas (Bologna et al., 2016; Huang et al., 2011; Suppa et al., 2017b). No nosso estudo, não houve redução do PEM com o ultrassom online de 20W/cm<sup>2</sup> em pacientes DP sem uso de medicação dopaminérgica, e essa falta de resposta foi revertida após a administração de medicação dopaminérgica nos mesmos pacientes. Esse achado sugere um potencial papel da dopamina no mecanismo de neuromodulação do UFBI *online*.

O aumento do efeito da SICI no grupo DP-ON após o UFBI *online* de 20W/cm<sup>2</sup> evidencia a possível ação do UFBI em neurônios gabaérgicos, que possuem regulação afetada em pacientes com DP (Ammann et al., 2021). O efeito mais pronunciado do UFBI em pacientes com DP que estão utilizando medicação dopaminérgica em comparação aos controles pode ser atribuído, possivelmente, à inibição inicial da SICI observada nos pacientes DP sob efeito da medicação (DP-ON). A presença de uma SICI inicialmente reduzida nos pacientes DP-ON pode ter facilitado uma modulação mais significativa, pois permitiu um aumento no mecanismo de SICI. Em contraste, essa dinâmica não foi tão evidente nos controles, uma vez que estes não apresentavam uma alteração basal na SICI.

### 6.1.3 ESTÍMULO SONORO COMO POSSÍVEL FATOR CONFUNDIDOR

É importante apontar uma diferença metodológica qualitativa entre o presente estudo e os estudos que evidenciaram redução do PEM após UFBI *online* mencionados anteriormente (Fomenko et al., 2020b; Legon et al., 2018b; Xia et al., 2021). O presente estudo utilizou um som de mascaramento de onda quadrada de 1 kHz reproduzido por fones de ouvido, que era reproduzido a partir de 100ms antes, até 100ms após o fim estimulação por UFBI em todos os registros (Braun et al., 2020). É importante observar que Braun e colaboradores, ao desenvolverem esse método, não investigaram o efeito do mascaramento sonoro na modulação dos PEM, concentrando-se exclusivamente na percepção sonora do UFBI e nos potenciais evocados auditivos. Optamos por replicar o mascaramento de Braun et al., 2020 no presente estudo devido a evidência sólida de sua eficácia em impedir que os participantes pudessem distinguir entre UFBI *online* placebo e ativo.

Os estudos anteriores não utilizaram mascaramento (Legon et al., 2018b), ou empregaram uma onda senoidal tonal reproduzida por alto-falantes apenas durante o período de estimulação por UFBI (Fomenko et al., 2020b). A escolha da onda tonal de 12kHz por Fomenko et. al foi motivada pela semelhança entre esse som e o som gerado pelo UFBI ao fornecer o estímulo de 20W. Essa discrepância nos estímulos sonoros pode ter contribuído para os resultados distintos quanto a redução do PEM no nosso estudo em comparação aos estudos anteriores.

Os resultados do experimento online II indicam que os dois diferentes estímulos sonoros utilizados como mascaramento nos experimentos prévios (Braun et al., 2020; Fomenko et al., 2020b) podem causar redução da excitabilidade cortical em comparação a condição sem estímulo sonoro, evidenciado pelo aumento da SI1mV. A comparação entre os estímulos mostrou que tanto a onda sonora de 1kHz quanto a de 12kHz induziram maior inibição do PEM com uma duração de 500ms em comparação com 700ms. No entanto, quando se avaliou os quatro diferentes estímulos na presença de UFBI ativo ou placebo, a frequência foi o fator que diferenciou o grau de inibição cortical motora, com um efeito inibitório mais pronunciado da frequência de 1kHz em comparação com 12kHz.

#### 6.1.4 EFEITO DO STÍMULO SONORO NO MODULAÇÃO CORTICAL

É relevante salientar que, embora não tenha havido um efeito estatisticamente significativo entre o UFBI ativo e o placebo no Experimento Online II, a Figura 25 revela uma tendência de redução do PEM com o uso do UFBI ativo em comparação com o placebo quando exposto ao mascaramento de 1 kHz (500 ou 700 ms). No entanto, o mascaramento de 12 kHz mostrou tendências de efeitos opostos, com redução do PEM com o uso de 500 ms e aumento do PEM com uso de 700 ms de duração. Assim, sugere-se que o efeito da duração do estímulo sonoro pode ter sido influenciado pela presença do UFBI. Isso respalda a hipótese de uma possível interação entre os efeitos neuromodulatórios da onda sonora e os efeitos neuromodulatórios do UFBI, contribuindo para a variabilidade de resultados observada.

De fato, estudos prévios já comprovaram que diferentes sons reproduzidos antes e durante a estimulação com uso de outras técnicas, como o EMT, influenciam os PEMs (Capozio et al., 2021), destacando assim a capacidade neuromodulatória do som. Ademais, sabe-se que o som também é um componente da estimulação com UFBI, visto que o ultrassom gera uma percepção auditiva/tátil. Um estudo em roedores constatou que o UFBI sobre o M1 provoca ativação generalizada do córtex auditivo (Sato et al., 2018). Dessa forma, a estimulação indireta da via auditiva periférica causada pelo UFBI pode interferir nas respostas somatossensoriais e motoras observadas com a estimulação por UFBI (Park et al., 2021).

Outro fator que deve ser considerado é a possibilidade do mascaramento auditivo atuar como pista sonora que precede o pulso único de EMT (Kop et al., 2023). A atenuação baseada na previsão tem sido relatada tanto nos domínios sensoriais quanto motores (Tran et al., 2021). Há uma supressão dos PEMs quando o momento de um pulso de EMT pode ser previsto por uma pista prévia em comparação com quando o pulso não pode ser previsto pelo participante (Capozio et al., 2021; Tran et al., 2021).

Acredita-se, então, que o UFBI interage com a dinâmica neural em curso ao introduzir novos elementos originados (Kop et al., 2023) pela estimulação gerada

diretamente pelo efeito mecânico do ultrassom e pela estimulação auditiva periférica causada pelo UFBI. Tanto o efeito neuromodulatório do UFBI quanto o efeito auditivo contribuem para o efeito do tipo de mascaramento sonoro adicionado. A esses três fatores, adiciona-se a possível inibição do PEM por antecipação. Portanto, as características da máscara sonora utilizada podem ser um fator crucial para modular o tamanho do efeito do UFBI online sobre o M1 e devem ser alvo de controle meticuloso em experimentos futuros.

## **6.2 PROTOCOLO OFFLINE**

O tbUFBI não induziu aumento de amplitude do PEM em pacientes com DP no estado sem medicação (DP-OFF); no entanto, a plasticidade foi restaurada com o uso de medicamentos dopaminérgicos (DP-ON). Esses achados são consistentes com resultados observados em pacientes com DP utilizando outros protocolos indutores de plasticidade, conforme resumido na Tabela 2 (Udupa et al., 2022). Tanto a plasticidade induzida por PAS quanto pelo protocolo quadripulso de EMT exibiram uma resposta reduzida no estado sem medicação, sendo restaurada no estado com medicação em pacientes com DP (Bagnato et al., 2006; Kačar et al., 2013; Morgante et al., 2006; Moriyasu et al., 2022; Ueki et al., 2006), semelhante ao encontrado no tbUFBI. No entanto, uma técnica diferente de indução de plasticidade com EMT apresentou resultados discrepantes em relação ao mencionado anteriormente. Um estudo indicou efeitos de potenciação do iTBS em pacientes com DP, independentemente do estado de medicação (Zamir et al., 2012). Por outro lado, um estudo adicional não revelou efeitos no estado com medicação (Stephani et al., 2011), destacando a possível heterogeneidade na resposta dos pacientes com DP a diversos protocolos de indução de plasticidade.

Embora não tenha alcançado significância estatística devido ao número limitado de pacientes com discinesia, nosso estudo revelou uma tendência de aumento na resposta de plasticidade motora induzida pelo tbUFBI em pacientes DP-ON com LID em comparação aos DP-ON sem LID. Estudos anteriores, que investigaram a indução de plasticidade cortical em pacientes com discinesia mostraram resultados conflitantes. Um estudo relatou ausência de plasticidade em pacientes DP em OFF com LID utilizando o protocolo PAS, e essa ausência não foi

restaurada com o uso de medicamentos dopaminérgicos (Morgante et al., 2006). A aplicação do iTBS em pacientes com DP ON com LID resultou em ausência de resposta de plasticidade em outro estudo (Kishore et al., 2012). Um terceiro estudo não identificou resposta ao iTBS em pacientes com DP, independentemente da presença de LID ou do estado de medicação (Suppa et al., 2011). Essa variação nos resultados pode ser explicada pela heterogeneidade dos pacientes com DP envolvidos nos estudos e pela diversidade nos protocolos utilizados, destacando um possível papel da desregulação motora, representada pela presença de LID, como um fator que influencia na capacidade de indução de plasticidade nesses pacientes.

Quanto ao efeito do tbUFBI em indivíduos saudáveis, anteriormente, relatamos que o tbUFBI induziu plasticidade em pessoas jovens e saudáveis, com idades médias de  $30,8 \pm 7,5$  e  $27,1 \pm 5$  anos (Samuel et al., 2022; Zeng et al., 2022). Nossos resultados agora demonstram que o tbUFBI também é capaz de induzir plasticidade em indivíduos saudáveis mais velhos, com uma média de idade de  $62,9 \pm 9,2$  anos. Ao avaliar os indivíduos saudáveis mais velhos neste estudo, observamos um aumento nas amplitudes de PEM cinco minutos após a estimulação, mas a significância estatística só foi alcançada aos 30 minutos. Em contraste, os participantes mais jovens no estudo anterior já apresentaram um aumento significativo na amplitude de PEM após apenas 5 minutos de sonicação com tbUFBI (Zeng et al., 2022). Essas discrepâncias estão de acordo com os efeitos da idade observados em outros protocolos indutores de plasticidade em seres humanos (Semmler et al., 2021). Estudos prévios mostraram que o grau de plasticidade induzida pela cTBS (Freitas et al., 2011), iTBS (Goldsworthy et al., 2020) e PAS (Kishore et al., 2014) também está reduzido em indivíduos mais velhos em comparação com os mais jovens. Nossos resultados sugerem, portanto, que a plasticidade induzida pelo tbUFBI também pode reduzir com o avanço da idade.

Em relação ao possível alvo específico de neuromodulação pelo tbUFBI no córtex motor, um estudo explorou as diferentes orientações da bobina de EMT durante a geração do PEM após tbUFBI, sugerindo que o principal alvo desse processo são os axônios dos interneurônios corticais, e não diretamente os axônios das células piramidais (Zeng et al., 2022). O estudo mostrou aumento do PEM após tbUFBI quando a bobina estava em orientação PA, mas não quando em orientação LM. A

corrente direcionada na orientação LM ativa diretamente os axônios corticospinais e recruta preferencialmente a onda D, enquanto a corrente direcionada na orientação PA ativa transsinápticamente os neurônios piramidais por meio de interneurônios corticais e recruta predominantemente as ondas I1 (Di Lazzaro et al., 2004). Portanto, os PEMs gerados por EMT direcionado na orientação PA demonstram ser sensíveis a alterações na excitabilidade cortical, ao contrário dos PEM gerados por EMT direcionado na orientação LM. Esses resultados sugerem que a modulação gerada pelo tbUFBI ocorre predominantemente na camada cortical de interneurônios.

### **6.2.1 UFBI *THETABURST* E A PLASTICIDADE CORTICAL MOTORA NA DP**

Assume-se que a LTP seja o mecanismo fisiológico ao nível sináptico para indução de plasticidade após o uso de tbUFBI, que se assemelha aos protocolos de EMT, como PAS e TBS (Antal et al., 2022). Semelhanças entre o mecanismo do PAS e TBS e a LTP observadas em preparações animais do córtex motor incluem cooperatividade, especificidade de entrada, associatividade, dependência do tempo de disparo, envolvimento dos receptores NMDA e canais de  $Ca^{2+}$  (Suppa et al., 2016; Ziemann, 2004a). Portanto, é muito provável que a LTP e o aumento da excitabilidade no córtex motor humano induzido por PAS e TBS compartilhem os mesmos mecanismos resultando em um aumento na eficácia das sinapses excitatórias.

Além disso, estudos com fármacos e protocolos de EMT fornecem mais evidências para essa hipótese. O uso de nimodipina, um bloqueador dos canais de cálcio do tipo L, reduziu a plasticidade semelhante à LTP induzida por cTBS e por PAS em M1 de indivíduos saudáveis (Wankerl et al., 2010), evidenciando o papel dos canais de cálcio na plasticidade TBS e PAS. Dessa forma, um estudo com um bloqueador do receptor NMDA mostrou uma redução da plasticidade induzida por TBS, indicando o papel do receptor de NMDA no mecanismo de plasticidade do TBS (Huang et al., 2007), o que também está em consonância com os padrões observados na LTP.

Os mecanismos subjacentes à plasticidade induzida por tbUFBI foram recentemente explorados em um estudo farmacológico (Shamli Oghli et al., 2023). Dado que a plasticidade de potenciação de longa duração (LTP) depende da ativação dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), influxo de  $Ca^{2+}$  e é inibida pelo aumento da atividade inibitória GABAérgica (Shamli Oghli et al., 2023), a ausência de plasticidade induzida por tbUFBI após a administração de dextrometorfano (antagonista do receptor NMDA), nimodipina (bloqueador de  $Ca^{2+}$ ) e lorazepam (agonista dos efeitos do receptor GABAA) é consistente com a hipótese de que os mecanismos da plasticidade induzida por tbUFBI são semelhantes àqueles envolvidos na LTP (Shamli Oghli et al., 2023).

A dopamina desempenha um papel fundamental na modulação da plasticidade da LTP. Ela exerce sua ação por meio de receptores D1, que aumentam, e receptores D2, que diminuem os níveis de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) (Speranza et al., 2021). Os receptores D1 e D2 interagem em oposição durante a fase de indução da LTP, e estudos *in vivo* e *in vitro* demonstram que o processo de LTP é otimizado pela presença de dopamina (Centonze et al., 2001). Os receptores D1 influenciam processos de plasticidade por meio de desinibição e modulação da sinalização do receptor NMDA (Brzosko et al., 2015; Duszkiwicz et al., 2019).

Estudos com murinos demonstram que o bloqueio dos receptores de dopamina reduz a LTP no córtex motor (Molina-Luna et al., 2009). Em um estudo *in vivo* foi observado que o sistema de dopamina modula a plasticidade estrutural dos neurônios piramidais da camada V no córtex motor em modelos de camundongos com DP (Guo et al., 2015). Este estudo também mostrou que a indução de LTP no córtex motor, e não no córtex de barril dos camundongos, estava comprometida nos modelos de camundongos com DP, evidenciando a especificidade da ação da dopamina (Guo et al., 2015). Ademais, a LTP foi especificamente bloqueada pelo antagonista do receptor D1, mas não foi afetada pelo antagonista do receptor D2, enfatizando que a ativação do receptor D1, mas não do receptor D2, é necessária para a LTP, reforçando o papel da dopamina (Guo et al., 2015; Xu et al., 2017).

Em nosso estudo, observamos que os efeitos de plasticidade do tbUFBI foram mais pronunciados no estado ON da medicação para DP do que no estado OFF, o

que é congruente com os efeitos da dopamina na plasticidade cortical semelhante à LTP. Ao se avaliar pacientes com DP *denovo* que apresentam uma redução menos acentuada da dopamina devido ao estágio mais inicial da doença, observamos um aumento da excitabilidade cortical, diferente do que foi evidenciado em pacientes com DP em estágio mais avançado e sem uso de medicação dopaminérgica (DP-OFF). Esses achados indicam que a plasticidade cortical induzida por tbUFBI na DP provavelmente depende da presença de dopamina.

### **6.2.2 EFEITOS DO UFBI *THETABURST* NA RMT, SI1MV**

Os pacientes com DP-ON apresentaram maior RMT e SI1mV em comparação com os pacientes com DP-OFF em diferentes momentos após o tbUFBI. Estudos anteriores mostraram uma possível redução do limiar motor em pacientes com DP sem medicação que foi parcialmente corrigida com medicamentos dopaminérgicos (Lefaucheur, 2005; Lefaucheur et al., 2004; Lou et al., 2003). Esses achados sugerem que a maior excitabilidade cortical motora dos pacientes com DP-OFF em comparação com os pacientes com DP-ON e controles pode ter contribuído para as diferentes respostas geradas pelo tbUFBI nos três grupos.

Além disso, a RMT e a SI 1mV não mostraram diferenças entre o valor inicial e os valores após o tbUFBI em nenhum dos três grupos (controles, DP-ON, DP-OFF). Esses resultados estão de acordo com estudos anteriores em indivíduos saudáveis (Oghli et al., 2021; Samuel et al., 2022; Zeng et al., 2022) e estudos que aplicaram o protocolo PAS em pacientes com DP e controles (Bagnato et al., 2006; Morgante et al., 2006). Indicando que essas medidas não são significativamente afetadas pelo tbUFBI.

### **6.2.3 EFEITOS DO UFBI *THETABURST* NA SICI E SICF**

No presente estudo, foi encontrada uma alteração significativa na SICI após o uso do tbUFBI apenas quando se avaliou DP-OFF e DP-*denovo*. Essa constatação alinha-se a dois estudos anteriores com tbUFBI, indicando uma redução da SICI em

indivíduos saudáveis (Samuel et al., 2022; Zeng et al., 2022). A restrição desse achado apenas à análise que incluiu o grupo DP-denovo pode ser explicado pela maior preservação dos mecanismos de ajuste da excitabilidade cortical em pacientes com DP de menor gravidade. A SICI se mostra menos inibida nos grupos DP-ON e DP-OFF em todos os momentos mensurados em comparação com os controles, o que é consistente com os achados anteriores de redução da SICI em pacientes com DP (Ammann et al., 2021).

Quanto à SICF, reportada como aumentada em pacientes com DP (Ni et al., 2013b; Shirota et al., 2019; Udupa & Chen, 2019a), observamos valores mais elevados nos pacientes com DP em comparação com os controles. Contudo, as diferenças foram estatisticamente significativas apenas na comparação entre o grupo DP-OFF e o DP-denovo 60 minutos após a uso de tbUFBI; o grupo DP-ON apresentou uma tendência de aumento da SICF 1,4 no mesmo intervalo de tempo. Essa dinâmica sugere um possível efeito excitatório tardio do tbUFBI, evidenciado pelo aumento na SICF 1,4 no grupo DP-denovo e uma tendência similar no grupo DP-ON. Essa resposta aponta para a necessidade de dopamina na mediação desse efeito tardio em pacientes com DP, que não parece ser um comportamento evidente em controles da mesma faixa etária e sexo.

O efeito do tbUFBI na SICF não foi previamente estudado. O mecanismo da SICF é hipotetizado como ocorrendo por meio da soma dos efeitos do primeiro e segundo estímulos no segmento axonal inicial dos interneurônios corticais que geram ondas indiretas (Ilić et al., 2002). Em um estudo avaliando pacientes com DP e LID, observou-se um aumento na SICF na medição basal, normalizando-se após o tratamento com um medicamento dopaminérgico e potencialmente anti-glutamatérgico (safinamida). Nesse estudo também foram mensurados os efeitos da plasticidade induzida pelo protocolo iTBS, indicando uma redução nos pacientes sem medicação e a restauração com o uso de safinamida. Houve correlação entre o grau de SICF e a quantidade de plasticidade gerada (Guerra & Bologna, 2022).

Dado que identificamos que o tbUFBI alterou a SICF 1,4 apenas no momento T60 em pacientes DP *denovo*, é possível que os mecanismos da plasticidade induzida por tbUFBI sejam similares ao iTBS, ocorrendo de maneira mais tardia e sendo

evidenciados apenas no grupo DP-*denovo*, caracterizado por homogeneidade clínica e menor gravidade da doença. Sugere-se, então, que a SICF possa não desempenhar um papel tão relevante no mecanismo de plasticidade induzido pelo tbUFBI em controles, comparativamente aos pacientes com DP. Essas observações destacam a complexidade da resposta ao tbUFBI e a influência significativa do estado clínico do paciente no perfil de plasticidade cortical. Em resumo, o tbUFBI parece influenciar de maneira única a SICI e SICF em pacientes com DP, especialmente naqueles em estágios iniciais da doença.

#### **6.2.4 EFEITOS CLÍNICOS DO UFBI THETABURST NOS SINAIS MOTORES DE DP**

O subitem bradicinesia do mUPDRS apresentou uma redução significativa em pacientes DP-ON e DP-*denovo* após 60 minutos do tbUFBI, mas não mostrou redução significativa no estado de DP-OFF. A média de redução na pontuação total do mUPDRS total foi de 1,7 para DP-ON e de 2,6 para DP-*denovo*, sendo que no subitem bradicinesia, a redução média foi de 1,3 para DP-ON e 2,0 para DP-*denovo*. É importante notar que, apesar da significância estatística, a redução observada não atende ao critério clinicamente relevante de uma diminuição mínima de 5 pontos na escala UPDRS motora, conforme definido por (Schrag et al., 2006). Vale ressaltar que os efeitos clínicos do tbUFBI nos sinais motores da DP não foram o foco principal deste estudo e podem ter sido subavaliados, uma vez que a avaliação do mUPDRS ocorreu 60 minutos após o tbUFBI, enquanto a excitabilidade cortical atingiu o pico aos 30 minutos e retornou ao valor inicial aos 60 minutos (Figura 3).

A melhora na bradicinesia está em consonância com descobertas anteriores que relataram aumento da velocidade em tarefas visuomotoras e de bater de dedos em indivíduos saudáveis após o uso do tbUFBI (Samuel et al., 2022; Zeng et al., 2022). No entanto, as pontuações do subitem tremor não apresentaram redução, possivelmente devido aos valores basais baixos, uma vez que excluímos pacientes com tremor de repouso proeminente, o qual poderia interferir nas medições de EMT. Esses achados sugerem que sessões repetidas de tbUFBI no córtex motor primário podem ser avaliadas em estudos futuros como um potencial tratamento para a DP.

### 6.2.5 INFLUÊNCIA DA GRAVIDADE DA DOENÇA DE PARKINSON NOS EFEITOS UFBI THETABURST

Ao analisar a relação entre a gravidade dos sintomas clínicos e o grau de plasticidade induzida pelo tbUFBI, identificamos uma correlação positiva no grupo DP-ND-ON. Isso sugere que, em pacientes ON sem LID, quanto mais grave a doença inicial, maior é o nível de plasticidade gerado 30 minutos após a estimulação com tbUFBI. No entanto, essa relação não se manteve ao avaliar o grupo ON com LID. O aumento associado à gravidade clínica pode indicar um efeito compensatório, pois a maior gravidade dos sintomas geralmente está associada a uma maior desregulação da excitabilidade cortical dos pacientes (Ammann et al., 2020). Este possível mecanismo regulatório parece estar afetado em pacientes com discinesia, resultando em um perfil diferente de efeitos do tbUFBI nesses casos.

Além disso, a disparidade nos efeitos do tbUFBI entre os grupos DP-OFF e DP-*denovo* reforça a influência da severidade da doença na indução de plasticidade. O aumento significativo no valor de PEM após 30 minutos de tbUFBI em DP-*denovo* em comparação com DP-OFF sugere que o perfil de efeitos do tbUFBI pode se assemelhar ao encontrado em controles saudáveis em pacientes com menor gravidade de doença. Isso implica em menor grau de alterações estruturais e neurofisiológicas nesses pacientes, proporcionando um perfil mais próximo ao observado em indivíduos saudáveis.

### 6.3 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Uma limitação do estudo é a falta do uso de neuronavegação para localizar ou monitorar a aplicação do EMT ou UFBI na área específica de M1. Embora isso possa ter contribuído para a variabilidade das respostas dos PEMs, a localização da representação do músculo FDI no M1 foi identificada pela localidade com as amplitudes de PEM mais altas e consistentes (*hotspot*). E, a bobina e o probe de UFBI foram mantidos na mesma localidade de maneira consistente pelo examinador guiado pela marcação com caneta realizada no couro cabeludo do paciente. No entanto, o uso da neuronavegação poderia ter proporcionado uma maior precisão e controle durante a estimulação.

Outra limitação é que alguns pacientes foram estimulados no hemicórtex menos afetado pela DP devido à interferência do tremor e rigidez na gravação dos PEMs em repouso no lado mais afetado. Essa abordagem potencialmente reduziu as diferenças observadas entre os pacientes com DP e os controles saudáveis, podendo explicar a ausência de diferenças significativas nos parâmetros de SICl e SICF entre os grupos DP-ON e DP-OFF. Essa limitação destaca a importância de levar em consideração as condições clínicas individuais ao interpretar os resultados.

Outra limitação presente principalmente no protocolo *online* é o tamanho da amostra. A pequena amostra reduz a validade dos resultados do uso do UFBI *online*, associada também ao possível fator de confusão gerado pelo estímulo sonoro utilizado no mascaramento.

Por fim, é relevante mencionar que o mUPDRS é uma medida altamente dependente do avaliador. Assim, uma mensuração mais objetiva da velocidade do movimento e do tremor com sensores cinemáticos poderia ter gerado medidas mais objetivas de alteração dos sintomas (Guerra, D'Onofrio, et al., 2023; Maldonado-Naranjo et al., 2019). Adicionalmente, o fato de o mUPDRS não ter sido mensurado aos 30 minutos, correspondente ao ponto temporal de maior efeito neurofisiológico do tbUFBI, representa uma limitação. A segunda avaliação do mUPDRS restrita ao período de 60 minutos após o tbUFBI foi realizada para evitar a influência da movimentação excessiva na plasticidade cortical. Manobras motoras, como a manobra de bater de dedos, e agilidade das pernas realizadas durante a avaliação do mUPDRS têm o potencial de induzir uma alteração transitória da excitabilidade cortical (Sasaki et al., 2017).

## 7 CONCLUSÕES

O estudo demonstrou que o UFBI *online* induziu redução da excitabilidade cortical mensurada pela redução da amplitude do PEM e aumento da inibição cortical mensurada pelo SICI em pacientes com DP em uso de medicação dopaminérgica. No entanto, esses efeitos não foram observados em pacientes com DP sem medicação ou em indivíduos saudáveis do grupo controle. É importante ressaltar que parte dos efeitos do protocolo *online* parecem ser secundárias à inibição cortical motora causada pelo uso do mascaramento sonoro.

O UFBI *thetaburst* induziu plasticidade cortical motora em pacientes com DP em uso de medicação dopaminérgica e controles saudáveis pareados por sexo e idade, mas não nos pacientes com DP no estado sem medicação. Pacientes recentemente diagnosticados com DP e com doença leve apresentaram resposta ao tbUFBI semelhantes a dos controles. Paciente com DP *denovo* mostraram uma tendência de redução da SICI e aumento da SICF após tbTUS, revelando um possível papel desses mecanismos no efeito do tbUFBI nessa população.

Esses achados indicam que há uma redução na plasticidade cortical motora na DP de moderada gravidade no estado sem medicação, provavelmente devido a um comprometimento na plasticidade cortical de LTP. Essa redução pode ser restaurada com uso de medicação dopaminérgica. Além disso, a LTP se mostra preservada em indivíduos com DP de gravidade leve, com pouco tempo de doença e menor depleção dopaminérgica. Pacientes do grupo DP-ON sem LID e com maior gravidade de sintomas motores, apresentam maior grau de indução de plasticidade. O tbUFBI teve um efeito sintomático leve nos sintomas de bradicinesia em DP-ON e DP-*denovo*.

Em resumo, o estudo sugere que o UFBI apresentou capacidade de induzir inibição motora no protocolo *online* em pacientes com DP de gravidade moderada em uso de medicação dopaminérgica. Ademais, a plasticidade cortical motora induzida por tbUFBI está comprometida na DP de gravidade moderada no estado sem medicação, mas não na DP de gravidade leve, com menor depleção dopaminérgica. O efeito do tbUFBI parece ser dependente da presença de dopamina, e tem o potencial de ser aplicado para melhora clínica, especialmente da bradicinesia.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ammann, C., Dileone, M., Pagge, C., Catanzaro, V., Mata-Marín, D., Hernández-Fernández, F., Monje, M. H. G., Sánchez-Ferro, Á., Fernández-Rodríguez, B., Gasca-Salas, C., Máñez-Miró, J. U., Martínez-Fernández, R., Vela-Desojo, L., Alonso-Frech, F., Oliviero, A., Obeso, J. A., & Foffani, G. (2020). Cortical disinhibition in Parkinson's disease. *Brain*, *143*(11), 3408–3421. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa274>
- Ammann, C., Dileone, M., Pagge, C., Catanzaro, V., Mata-Marin, D., Hernandez-Fernandez, F., Monje, M. H. G., Sanchez-Ferro, A., Fernandez-Rodriguez, B., Gasca-Salas, C., Manez-Miro, J. U., Martinez-Fernandez, R., Vela-Desojo, L., Alonso-Frech, F., Oliviero, A., Obeso, J. A., & Foffani, G. (2021). Cortical disinhibition in Parkinson's disease. *Brain*, *143*(11), 3408–3421. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWAA274>
- Antal, A., Luber, B., Brem, A.-K., Bikson, M., Brunoni, A. R., Cohen Kadosh, R., Dubljević, V., Fecteau, S., Ferreri, F., Flöel, A., Hallett, M., Hamilton, R. H., Herrmann, C. S., Lavidor, M., Loo, C., Lustenberger, C., Machado, S., Miniussi, C., Moliadze, V., ... Paulus, W. (2022). Non-invasive brain stimulation and neuroenhancement. *Clinical Neurophysiology Practice*, *7*, 146–165. <https://doi.org/10.1016/j.cnp.2022.05.002>
- Appelbaum, L. G., Shenasa, M. A., Stolz, L., & Daskalakis, Z. (2023). Synaptic plasticity and mental health: Methods, challenges and opportunities. *Neuropsychopharmacology*, *48*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41386-022-01370-w>

- Armstrong, M. J., & Okun, M. S. (2020). Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 323(6), 548–560. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.22360>
- Arora, T., Ciu, C., Desai (Kapadia), N., Grippe, T. C., Nankoo, J.-F., Ding, M. Y. R., & Chen, R. (2022). poster\_Tarun.pdf. *Investigation of the Location of Action of Low-Intensity Focused Ultrasound (TUS) within the Human Motor Cortex Using Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) - A Combined TMS-TUS Study ., Program No. 414.16.*
- Badawy, R. A. B., Loetscher, T., Macdonell, R. A. L., & Brodtmann, A. (2012). Cortical excitability and neurology: Insights into the pathophysiology. *Functional Neurology*, 27(3), 131–145.
- Bagnato, S., Agostino, R., Modugno, N., Quartarone, A., & Berardelli, A. (2006). Plasticity of the motor cortex in Parkinson's disease patients on and off therapy. *Movement Disorders*, 21(5), 639–645. <https://doi.org/10.1002/mds.20778>
- Barbosa, M. T., Caramelli, P., Maia, D. P., Cunningham, M. C. Q., Guerra, H. L., Lima-Costa, M. F., & Cardoso, F. (2006). Parkinsonism and Parkinson's disease in the elderly: A community-based survey in Brazil (the Bambuí study). *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 21(6), 800–808. <https://doi.org/10.1002/mds.20806>
- Benjamin R. Kop, Yazan Shamli Oghli, Talyta C. Grippe, Tulika Nandi, Judith Lefkes, Sjoerd W. Meijer, Soha Farboud, Marwan Engels, Michelle Hamani, Melissa Null, Angela Radetz, Umair Hassan, Ghazaleh Darmani, Andrey Chetverikov, Hanneke E.M. den Ouden, Til Ole Bergmann, Robert Chen, & Lennart Verhagen. (2023). Auditory confounds can drive online effects of transcranial

ultrasonic stimulation in humans. *bioRxiv*, 2023.02.22.527901.

<https://doi.org/10.1101/2023.02.22.527901>

Bhatia, M., Johri, S., & Behari, M. (2003). Increased cortical excitability with longer duration of Parkinson's disease as evaluated by transcranial magnetic stimulation. *Neurology India*, 51(1), 13–15.

Bloem, B. R., Okun, M. S., & Klein, C. (2021). Parkinson's disease. *The Lancet*, 397(10291), 2284–2303. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00218-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00218-X)

Bologna, M., Guerra, A., Paparella, G., Giordo, L., Fegatelli, D. A., Vestri, A. R., Rothwell, J. C., & Berardelli, A. (2018). Neurophysiological correlates of bradykinesia in Parkinson's disease. *Brain*, 141(8), 2432–2444.

<https://doi.org/10.1093/brain/awy155>

Bologna, M., Paparella, G., Fasano, A., Hallett, M., & Berardelli, A. (2020). Evolving concepts on bradykinesia. *Brain*, 143(3), 727–750.

<https://doi.org/10.1093/brain/awz344>

Bologna, M., Suppa, A., Conte, A., Latorre, A., Rothwell, J. C., & Berardelli, A. (2016). Are studies of motor cortex plasticity relevant in human patients with Parkinson's disease? *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 127(1), 50–59.

<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.02.009>

Braak, H., & Del Tredici, K. (2008). Cortico-basal ganglia-cortical circuitry in Parkinson's disease reconsidered. *Experimental Neurology*, 212(1), 226–229.

<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.04.001>

Braun, V., Blackmore, J., Cleveland, R. O., & Butler, C. R. (2020). Transcranial ultrasound stimulation in humans is associated with an auditory confound that

can be effectively masked. *Brain Stimulation*, 13(6), 1527–1534.

<https://doi.org/10.1016/j.brs.2020.08.014>

Bretsztajn, L., & Gedroyc, W. (2018). Brain-focussed ultrasound: What's the "FUS" all about? A review of current and emerging neurological applications. *The British Journal of Radiology*, 20170481. <https://doi.org/10.1259/bjr.20170481>

Brohawn, S. G., Su, Z., & MacKinnon, R. (2014). Mechanosensitivity is mediated directly by the lipid membrane in TRAAK and TREK1 K<sup>+</sup> channels.

*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(9), 3614–3619. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320768111>

Brzosko, Z., Schultz, W., & Paulsen, O. (2015). Retroactive modulation of spike timing-dependent plasticity by dopamine. *eLife*, 4, e09685.

<https://doi.org/10.7554/eLife.09685>

Cantello, R., Tarletti, R., & Civardi, C. (2002). Transcranial magnetic stimulation and Parkinson's disease. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 38(3), 309–327. [https://doi.org/10.1016/s0165-0173\(01\)00158-8](https://doi.org/10.1016/s0165-0173(01)00158-8)

Capozio, A., Chakrabarty, S., & Astill, S. (2021). The Effect of Sound and Stimulus Expectation on Transcranial Magnetic Stimulation-Elicited Motor Evoked Potentials. *Brain Topography*, 34(6), 720–730. <https://doi.org/10.1007/s10548-021-00867-9>

Carlsen, E. N. (1975). Ultrasound physics for the physician. A brief review. *Journal of Clinical Ultrasound: JCU*, 3(1), 69–75. <https://doi.org/10.1002/jcu.1870030115>

Centonze, D., Picconi, B., Gubellini, P., Bernardi, G., & Calabresi, P. (2001).

Dopaminergic control of synaptic plasticity in the dorsal striatum:

Dopaminergic control of synaptic plasticity. *European Journal of*

- Neuroscience*, 13(6), 1071–1077. <https://doi.org/10.1046/j.0953-816x.2001.01485.x>
- Chen, R. (2004). Interactions between inhibitory and excitatory circuits in the human motor cortex. *Experimental Brain Research*, 154(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00221-003-1684-1>
- Chen, R., Berardelli, A., Bhattacharya, A., Bologna, M., Chen, K.-H. S., Fasano, A., Helmich, R. C., Hutchison, W. D., Kamble, N., Kühn, A. A., Macerollo, A., Neumann, W.-J., Pal, P. K., Paparella, G., Suppa, A., & Udupa, K. (2022). Clinical neurophysiology of Parkinson's disease and parkinsonism. *Clinical Neurophysiology Practice*, 7, 201–227. <https://doi.org/10.1016/j.cnp.2022.06.002>
- Chou, C., Lee, C., Hsiao, F., Chen, Y., Lin, C., Liu, H., Peng, S., Shih, Y., & Yu, H. (2021). Neuronavigation-Guided Low-Intensity Focused Ultrasound in Patients with Epilepsy. *Focus Ultrasound Conference - Oral Presentation*, 24.
- Citri, A., & Malenka, R. C. (2008). Synaptic Plasticity: Multiple Forms, Functions, and Mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301559>
- Cnaan, A., Laird, N. M., & Slasor, P. (1997). Using the general linear mixed model to analyse unbalanced repeated measures and longitudinal data. *Statistics in Medicine*, 16(20), 2349–2380. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0258\(19971030\)16:20<2349::AID-SIM667>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0258(19971030)16:20<2349::AID-SIM667>3.0.CO;2-E)
- Cracco, R. Q., Cracco, J. B., Maccabee, P. J., & Amassian, V. E. (1999). Cerebral function revealed by transcranial magnetic stimulation. *Journal of Neuroscience Methods*, 86(2), 209–219. [https://doi.org/10.1016/s0165-0270\(98\)00167-8](https://doi.org/10.1016/s0165-0270(98)00167-8)

- Darmani, G., Bergmann, T. O., Butts Pauly, K., Caskey, C. F., de Lecea, L., Fomenko, A., Fouragnan, E., Legon, W., Murphy, K. R., Nandi, T., Phipps, M. A., Pinton, G., Ramezanpour, H., Sallet, J., Yaakub, S. N., Yoo, S. S., & Chen, R. (2022). Non-invasive transcranial ultrasound stimulation for neuromodulation. *Clinical Neurophysiology*, *135*, 51–73.  
<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2021.12.010>
- De Pablo-Fernández, E., Lees, A. J., Holton, J. L., & Warner, T. T. (2018). Prognosis and neuropathologic correlation of clinical subtypes of parkinson disease. *JAMA Neurology*, 1–10. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.4377>
- Detry, M. A., & Ma, Y. (2016). Analyzing Repeated Measurements Using Mixed Models. *JAMA*, *315*(4), 407. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.19394>
- Di Lazzaro, V., Oliviero, A., Pilato, F., Saturno, E., Dileone, M., Mazzone, P., Insola, A., Tonali, P. A., & Rothwell, J. C. (2004). The physiological basis of transcranial motor cortex stimulation in conscious humans. *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, *115*(2), 255–266.  
<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2003.10.009>
- Dorsey, E. . R., Elbaz, A., Nichols, E., Abd-Allah, F., Abdelalim, A., Adsuar, J. C., Ansha, M. G., Brayne, C., Choi, J. Y. J., Collado-Mateo, D., Dahodwala, N., Do, H. P., Edessa, D., Endres, M., Fereshtehnejad, S. M., Foreman, K. J., Gankpe, F. G., Gupta, R., Hankey, G. J., ... Murray, C. J. L. (2018). Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990–2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*, *17*(11), 939–953. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30295-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30295-3)

- Duszkiewicz, A. J., McNamara, C. G., Takeuchi, T., & Genzel, L. (2019). Novelty and Dopaminergic Modulation of Memory Persistence: A Tale of Two Systems. *Trends in Neurosciences*, 42(2), 102–114.  
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.10.002>
- Eggers, C., Fink, G. R., & Nowak, D. A. (2010). Theta burst stimulation over the primary motor cortex does not induce cortical plasticity in Parkinson's disease. *Journal of Neurology*, 257(10), 1669–1674. <https://doi.org/10.1007/s00415-010-5597-1>
- Espay, A. J., Morgante, F., Merola, A., Fasano, A., Marsili, L., Fox, S. H., Bezard, E., Picconi, B., Calabresi, P., & Lang, A. E. (2018). Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson disease: Current and evolving concepts. *Annals of Neurology*, 84(6), 797–811. <https://doi.org/10.1002/ana.25364>
- Ferbert, A., Priori, A., Rothwell, J. C., Day, B. L., Colebatch, J. G., & Marsden, C. D. (1992). Interhemispheric inhibition of the human motor cortex. *The Journal of Physiology*, 453, 525–546. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1992.sp019243>
- Fomenko, A., Chen, K.-H. S., Nankoo, J.-F., Saravanamuttu, J., Wang, Y., El-Baba, M., Xia, X., Seerala, S. S., Hynynen, K., Lozano, A. M., & Chen, R. (2020a). Systematic examination of low-intensity ultrasound parameters on human motor cortex excitability and behavior. *eLife*, 9, e54497.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.54497>
- Fomenko, A., Chen, K.-H. S., Nankoo, J.-F., Saravanamuttu, J., Wang, Y., El-Baba, M., Xia, X., Seerala, S. S., Hynynen, K., Lozano, A. M., & Chen, R. (2020b). Systematic examination of low-intensity ultrasound parameters on human motor cortex excitability and behaviour. *eLife*, 9, 1–30.  
<https://doi.org/10.7554/elife.54497>

- Fomenko, A., Neudorfer, C., Dallapiazza, R. F., Kalia, S. K., & Lozano, A. M. (2018). Low-intensity ultrasound neuromodulation: An overview of mechanisms and emerging human applications. *Brain Stimulation*, *11*(6), 1209–1217. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.08.013>
- Freitas, C., Perez, J., Knobel, M., Tormos, J. M., Oberman, L., Eldaief, M., Bashir, S., Vernet, M., Peña-Gómez, C., & Pascual-Leone, A. (2011). Changes in Cortical Plasticity Across the Lifespan. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *3*. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2011.00005>
- Fry, F. J., Ades, H. W., & Fry, W. J. (1958). Production of Reversible Changes in the Central Nervous System by Ultrasound. *Science*, *127*(3289), 83–84. <https://doi.org/10.1126/science.127.3289.83>
- Fry, W. J. (1954). Intense Ultrasound—A New Tool for Neurological Research. *Journal of Mental Science*, *100*(418), 85–96. <https://doi.org/10.1192/bjp.100.418.85>
- Gasca-Salas, C., Fernández-Rodríguez, B., Pineda-Pardo, J. A., Rodríguez-Rojas, R., Obeso, I., Hernández-Fernández, F., del Álamo, M., Mata, D., Guida, P., Ordás-Bandera, C., Montero-Roblas, J. I., Martínez-Fernández, R., Foffani, G., Rachmilevitch, I., & Obeso, J. A. (2021). Blood-brain barrier opening with focused ultrasound in Parkinson's disease dementia. *Nature Communications*, *12*(1), 779. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21022-9>
- Ghasemian-Shirvan, E., Mosayebi-Samani, M., Farnad, L., Kuo, M.-F., Meesen, R. L. J., & Nitsche, M. A. (2022). Age-dependent non-linear neuroplastic effects of cathodal tDCS in the elderly population: A titration study. *Brain Stimulation*, *15*(2), 296–305. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.01.011>

- Goldsworthy, M. R., Rogasch, N. C., Ballinger, S., Graetz, L., Van Dam, J. M., Harris, R., Yu, S., Pitcher, J. B., Baune, B. T., & Ridding, M. C. (2020). Age-related decline of neuroplasticity to intermittent theta burst stimulation of the lateral prefrontal cortex and its relationship with late-life memory performance. *Clinical Neurophysiology*, *131*(9), 2181–2191. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2020.06.015>
- Guerra, A., & Bologna, M. (2022). Low-Intensity Transcranial Ultrasound Stimulation: Mechanisms of Action and Rationale for Future Applications in Movement Disorders. *Brain Sciences*, *12*(5), 611. <https://doi.org/10.3390/brainsci12050611>
- Guerra, A., Colella, D., Cannavacciuolo, A., Giangrosso, M., Paparella, G., Fabbrini, G., Berardelli, A., & Bologna, M. (2023). Short-term plasticity of the motor cortex compensates for bradykinesia in Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*, *182*, 106137. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106137>
- Guerra, A., D'Onofrio, V., Ferreri, F., Bologna, M., & Antonini, A. (2023). Objective measurement versus clinician-based assessment for Parkinson's disease. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *23*(8), 689–702. <https://doi.org/10.1080/14737175.2023.2229954>
- Guo, L., Xiong, H., Kim, J.-I., Wu, Y.-W., Lalchandani, R. R., Cui, Y., Shu, Y., Xu, T., & Ding, J. B. (2015). Dynamic rewiring of neural circuits in the motor cortex in mouse models of Parkinson's disease. *Nature Neuroscience*, *18*(9), 1299–1309. <https://doi.org/10.1038/nn.4082>
- Hallett, M. (2007). Transcranial Magnetic Stimulation: A Primer. *Neuron*, *55*(2), 187–199. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.06.026>

- Higashihara, M., Van Den Bos, M. A. J., Menon, P., Kiernan, M. C., & Vucic, S. (2020). Interneuronal networks mediate cortical inhibition and facilitation. *Clinical Neurophysiology*, *131*(5), 1000–1010. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2020.02.012>
- Hirsch, L., Jette, N., Frolkis, A., Steeves, T., & Pringsheim, T. (2016). The Incidence of Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroepidemiology*, *46*(4), 292–300. <https://doi.org/10.1159/000445751>
- Huang, Y.-Z., Chen, R.-S., Rothwell, J. C., & Wen, H.-Y. (2007). The after-effect of human theta burst stimulation is NMDA receptor dependent. *Clinical Neurophysiology*, *118*(5), 1028–1032. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2007.01.021>
- Huang, Y.-Z., Edwards, M. J., Rounis, E., Bhatia, K. P., & Rothwell, J. C. (2005). Theta Burst Stimulation of the Human Motor Cortex. *Neuron*, *45*(2), 201–206. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.12.033>
- Huang, Y.-Z., Rothwell, J. C., Lu, C.-S., Chuang, W.-L., & Chen, R.-S. (2011). Abnormal bidirectional plasticity-like effects in Parkinson's disease. *Brain*, *134*(8), 2312–2320. <https://doi.org/10.1093/brain/awr158>
- Hyland, B. I., Seeger-Armbruster, S., Smither, R. A., & Parr-Brownlie, L. C. (2019). Altered Recruitment of Motor Cortex Neuronal Activity During the Grasping Phase of Skilled Reaching in a Chronic Rat Model of Unilateral Parkinsonism. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *39*(48), 9660–9672. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0720-19.2019>
- Hynynen, K., McDannold, N., Sheikov, N. A., Jolesz, F. A., & Vykhodtseva, N. (2005). Local and reversible blood–brain barrier disruption by noninvasive focused

- ultrasound at frequencies suitable for trans-skull sonications. *NeuroImage*, 24(1), 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.06.046>
- Ilić, T. V., Meintzschel, F., Cleff, U., Ruge, D., Kessler, K. R., & Ziemann, U. (2002). Short-interval paired-pulse inhibition and facilitation of human motor cortex: The dimension of stimulus intensity. *The Journal of Physiology*, 545(1), 153–167. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.030122>
- Jost, S. T., Kaldenbach, M., Antonini, A., Martinez-Martin, P., Timmermann, L., Odin, P., Katzenschlager, R., Borgohain, R., Fasano, A., Stocchi, F., Hattori, N., Kukkle, P. L., Rodríguez-Violante, M., Falup-Pecurariu, C., Schade, S., Petry-Schmelzer, J. N., Metta, V., Weintraub, D., Deuschl, G., ... the International Parkinson and Movement Disorders Society Non-Motor Parkinson Disease Study Group. (2023). Levodopa Dose Equivalency in Parkinson's Disease: Updated Systematic Review and Proposals. *Movement Disorders*, mds.29410. <https://doi.org/10.1002/mds.29410>
- Kačar, A., Filipović, S. R., Kresojević, N., Milanović, S. D., Ljubisavljević, M., Kostić, V. S., & Rothwell, J. C. (2013). History of exposure to dopaminergic medication does not affect motor cortex plasticity and excitability in Parkinson's disease. *Clinical Neurophysiology*, 124(4), 697–707. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2012.09.016>
- Kalia, L. V, Lang, A. E., & Shulman, G. (2015). Parkinson ' s disease. *The Lancet*, 386(9996), 896–912. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61393-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393-3)
- Kishore, A., Popa, T., James, P., Yahia-Cherif, L., Backer, F., Varughese Chacko, L., Govind, P., Pradeep, S., & Meunier, S. (2014). Age-related decline in the responsiveness of motor cortex to plastic forces reverses with levodopa or

cerebellar stimulation. *Neurobiology of Aging*, 35(11), 2541–2551.

<https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.05.004>

Kishore, A., Popa, T., Velayudhan, B., Joseph, T., Balachandran, A., & Meunier, S. (2012). Acute dopamine boost has a negative effect on plasticity of the primary motor cortex in advanced Parkinson's disease. *Brain*, 135(7), 2074–2088.

<https://doi.org/10.1093/brain/aws124>

Kop, B. R., Oghli, Y. S., Grippe, T. C., Nandi, T., Lefkes, J., Meijer, S. W., Farboud, S., Engels, M., Hamani, M., Null, M., Radetz, A., Hassan, U., Darmani, G., Chetverikov, A., Den Ouden, H. E. M., Bergmann, T. O., Chen, R., & Verhagen, L. (2023). *Auditory confounds can drive online effects of transcranial ultrasonic stimulation in humans* [Preprint]. Neuroscience.

<https://doi.org/10.1101/2023.02.22.527901>

Kordower, J. H., Olanow, C. W., Dodiya, H. B., Chu, Y., Beach, T. G., Adler, C. H., Halliday, G. M., & Bartus, R. T. (2013). Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in Parkinson's disease. *Brain: A Journal of Neurology*, 136(Pt 8), 2419–2431. <https://doi.org/10.1093/brain/awt192>

Kricheldorf, J., Göke, K., Kiebs, M., Kasten, F. H., Herrmann, C. S., Witt, K., & Hurlmann, R. (2022). Evidence of Neuroplastic Changes after Transcranial Magnetic, Electric, and Deep Brain Stimulation. *Brain Sciences*, 12(7), 929.

<https://doi.org/10.3390/brainsci12070929>

Kubanek, J., Shi, J., Marsh, J., Chen, D., Deng, C., & Cui, J. (2016). Ultrasound modulates ion channel currents. *Scientific Reports*, 6, 24170.

<https://doi.org/10.1038/srep24170>

Kujirai, T., Caramia, M. D., Rothwell, J. C., Day, B. L., Thompson, P. D., Ferbert, A., Wroe, S., Asselman, P., & Marsden, C. D. (1993). Corticocortical inhibition in

human motor cortex. *The Journal of Physiology*, 471(1), 501–519.

<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1993.sp019912>

Lefaucheur, J.-P. (2005). Motor cortex dysfunction revealed by cortical excitability studies in Parkinson's disease: Influence of antiparkinsonian treatment and cortical stimulation. *Clinical Neurophysiology*, 116(2), 244–253.

<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2004.11.017>

Lefaucheur, J.-P., Drouot, X., Von Raison, F., Ménard-Lefaucheur, I., Cesaro, P., & Nguyen, J.-P. (2004). Improvement of motor performance and modulation of cortical excitability by repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex in Parkinson's disease. *Clinical Neurophysiology*, 115(11), 2530–2541.

<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2004.05.025>

Legon, W., Bansal, P., Tyshynsky, R., Ai, L., & Mueller, J. K. (2018a). Transcranial focused ultrasound neuromodulation of the human primary motor cortex.

*Scientific Reports*, 8(1), 10007. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28320-1>

Legon, W., Bansal, P., Tyshynsky, R., Ai, L., & Mueller, J. K. (2018b). Transcranial focused ultrasound neuromodulation of the human primary motor cortex.

*Scientific Reports*, 8(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28320-1>

Legon, W., Sato, T. F., Opitz, A., Mueller, J., Barbour, A., Williams, A., & Tyler, W. J. (2014). Transcranial focused ultrasound modulates the activity of primary somatosensory cortex in humans. *Nature Neuroscience*, 17(2), 322–329.

<https://doi.org/10.1038/nn.3620>

Lewis, S. J. G. (2005). Heterogeneity of Parkinson's disease in the early clinical stages using a data driven approach. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 76(3), 343–348. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2003.033530>

- Li, J.-Y., Espay, A. J., Gunraj, C. A., Pal, P. K., Cunic, D. I., Lang, A. E., & Chen, R. (2007). Interhemispheric and ipsilateral connections in Parkinson's disease: Relation to mirror movements. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 22(6), 813–821.  
<https://doi.org/10.1002/mds.21386>
- Lin, Z., Meng, L., Zou, J., Zhou, W., Huang, X., Xue, S., Bian, T., Yuan, T., Niu, L., Guo, Y., & Zheng, H. (2020). Non-invasive ultrasonic neuromodulation of neuronal excitability for treatment of epilepsy. *Theranostics*, 10(12), 5514–5526. <https://doi.org/10.7150/thno.40520>
- Lipsman, N., Meng, Y., Bethune, A. J., Huang, Y., Lam, B., Masellis, M., Herrmann, N., Heyn, C., Aubert, I., Boutet, A., Smith, G. S., Hynynen, K., & Black, S. E. (2018). Blood–brain barrier opening in Alzheimer's disease using MR-guided focused ultrasound. *Nature Communications*, 9(1), 2336.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-018-04529-6>
- Liu, C., Yu, K., Niu, X., & He, B. (2021). Transcranial Focused Ultrasound Enhances Sensory Discrimination Capability through Somatosensory Cortical Excitation. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 47(5), 1356–1366.  
<https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2021.01.025>
- López-Alonso, V., Cheeran, B., Río-Rodríguez, D., & Fernández-Del-Olmo, M. (2014). Inter-individual variability in response to non-invasive brain stimulation paradigms. *Brain Stimulation*, 7(3), 372–380.  
<https://doi.org/10.1016/j.brs.2014.02.004>
- Lou, J.-S., Benice, T., Kearns, G., Sexton, G., & Nutt, J. (2003). Levodopa normalizes exercise related cortico-motoneuron excitability abnormalities in

- Parkinson's disease. *Clinical Neurophysiology*, 114(5), 930–937.  
[https://doi.org/10.1016/S1388-2457\(03\)00040-3](https://doi.org/10.1016/S1388-2457(03)00040-3)
- Maldonado-Naranjo, A., Koop, M. M., Hogue, O., Alberts, J., & Machado, A. (2019). Kinematic Metrics from a Wireless Stylus Quantify Tremor and Bradykinesia in Parkinson's Disease. *Parkinson's Disease*, 2019, 6850478.  
<https://doi.org/10.1155/2019/6850478>
- Malenka, R. C., & Bear, M. F. (2004). LTP and LTD: An embarrassment of riches. *Neuron*, 44(1), 5–21. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.09.012>
- Málly, J., Geisz, N., Stone, T., & Dina, E. (2019). Long Term Follow-Up Study with non-invasive brain stimulation (NBS) (rTMS and tDCS) in Parkinson's disease (PD). Strong Age Dependency in the Effect of NBS. *Brain Stimulation: Basic, Translational, and Clinical Research in Neuromodulation*, 12(2), 385–386.  
<https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.12.233>
- Massey, P. V., & Bashir, Z. I. (2007). Long-term depression: Multiple forms and implications for brain function. *Trends in Neurosciences*, 30(4), 176–184.  
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.02.005>
- Molina-Luna, K., Pekanovic, A., Röhrich, S., Hertler, B., Schubring-Giese, M., Rioult-Pedotti, M.-S., & Luft, A. R. (2009). Dopamine in Motor Cortex Is Necessary for Skill Learning and Synaptic Plasticity. *PLoS ONE*, 4(9), e7082.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007082>
- Morgante, F., Espay, A. J., Gunraj, C., Lang, A. E., & Chen, R. (2006). Motor cortex plasticity in Parkinson's disease and levodopa-induced dyskinesias. *Brain*, 129(4), 1059–1069. <https://doi.org/10.1093/brain/awl031>
- Moriyasu, S., Shimizu, T., Honda, M., Ugawa, Y., & Hanajima, R. (2022). Motor cortical plasticity and its correlation with motor symptoms in Parkinson's

disease. *eNeurologicalSci*, 29, 100422.

<https://doi.org/10.1016/j.ensci.2022.100422>

- Mueller, J. K., Ai, L., Bansal, P., & Legon, W. (2017). Numerical evaluation of the skull for human neuromodulation with transcranial focused ultrasound. *Journal of Neural Engineering*, 14(6), 066012. <https://doi.org/10.1088/1741-2552/aa843e>
- Ni, Z., Bahl, N., Gunraj, C. A., Mazzella, F., & Chen, R. (2013a). Increased motor cortical facilitation and decreased inhibition in Parkinson disease. *Neurology*, 80(19), 1746–1753. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182919029>
- Ni, Z., Bahl, N., Gunraj, C. A., Mazzella, F., & Chen, R. (2013b). Increased motor cortical facilitation and decreased inhibition in Parkinson disease. *Neurology*, 80(19), 1746–1753. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182919029>
- Ni, Z., & Chen, R. (2008). Short-interval intracortical inhibition: A complex measure. *Clinical Neurophysiology*, 119(10), 2175–2176. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2008.06.007>
- Ni, Z., Gunraj, C., Nelson, A. J., Yeh, I.-J., Castillo, G., Hoque, T., & Chen, R. (2009). Two phases of interhemispheric inhibition between motor related cortical areas and the primary motor cortex in human. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 19(7), 1654–1665. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn201>
- Ni, Z., Pinto, A. D., Lang, A. E., & Chen, R. (2010). Involvement of the cerebellothalamocortical pathway in Parkinson disease. *Annals of Neurology*, 68(6), 816–824. <https://doi.org/10.1002/ana.22221>
- Noyce, A. J., Bestwick, J. P., Silveira-Moriyama, L., Hawkes, C. H., Giovannoni, G., Lees, A. J., & Schrag, A. (2012). Meta-analysis of early nonmotor features and

- risk factors for Parkinson disease. *Annals of Neurology*, 72(6), 893–901.  
<https://doi.org/10.1002/ana.23687>
- Obeso, J. A., Rodríguez-Oroz, M. C., Benitez-Temino, B., Blesa, F. J., Guridi, J., Marin, C., & Rodriguez, M. (2008). Functional organization of the basal ganglia: Therapeutic implications for Parkinson's disease. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 23 Suppl 3, S548-559. <https://doi.org/10.1002/mds.22062>
- Oghli, Y. S., Cortez-Grippe, T., Darmani, G., & Chen, R. (2021). Pharmacological mechanisms of focused ultrasound for human motor cortical plasticity. *Brain Stimulation*, 14(6), 1629–1630. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2021.10.134>
- Papaléo, R. M., & De Souza, D. S. (2019). Ultrassonografia: Princípios Físicos e Controle da Qualidade. *Revista Brasileira de Física Médica*, 13(1), 14. <https://doi.org/10.29384/rbfm.2019.v13.n1.p14-23>
- Park, C., Chen, M., & Kim, T. (2021). Implication of auditory confounding in interpreting somatosensory and motor responses in low-intensity focused transcranial ultrasound stimulation. *Journal of Neurophysiology*, 125(6), 2356–2360. <https://doi.org/10.1152/jn.00701.2020>
- Pasquinelli, C., Hanson, L. G., Siebner, H. R., Lee, H. J., & Thielscher, A. (2019). Safety of transcranial focused ultrasound stimulation: A systematic review of the state of knowledge from both human and animal studies. *Brain Stimulation*, 12(6), 1367–1380. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2019.07.024>
- Pinto, A. D., & Chen, R. (2001). Suppression of the motor cortex by magnetic stimulation of the cerebellum. *Experimental Brain Research*, 140(4), 505–510. <https://doi.org/10.1007/s002210100862>

- Postuma, R. B., Berg, D., Stern, M., Poewe, W., Olanow, C. W., Oertel, W., Obeso, J., Marek, K., Litvan, I., Lang, A. E., Halliday, G., Goetz, C. G., Gasser, T., Dubois, B., Chan, P., Bloem, B. R., Adler, C. H., & Deuschl, G. (2015a). MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, *30*(12), 1591–1601. <https://doi.org/10.1002/mds.26424>
- Postuma, R. B., Berg, D., Stern, M., Poewe, W., Olanow, C. W., Oertel, W., Obeso, J., Marek, K., Litvan, I., Lang, A. E., Halliday, G., Goetz, C., Gasser, T., Dubois, B., Chan, P., Bloem, B. R., Adler, C. H., & Deuschl, G. (2015b). MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, *30*(12), 1591–1599. <https://doi.org/10.1007/s00415-016-8370-2>
- Prieto, M. L., Firouzi, K., Khuri-Yakub, B. T., Madison, D. V., & Maduke, M. (2020). Spike frequency–dependent inhibition and excitation of neural activity by high-frequency ultrasound. *Journal of General Physiology*, *152*(11), e202012672. <https://doi.org/10.1085/jgp.202012672>
- Prieto, M. L., Oralkan, Ö., Khuri-Yakub, B. T., & Maduke, M. C. (2013). Dynamic Response of Model Lipid Membranes to Ultrasonic Radiation Force. *PLoS ONE*, *8*(10), e77115. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077115>
- Priori, A., Berardelli, A., Inghilleri, M., Accornero, N., & Manfredi, M. (1994). Motor cortical inhibition and the dopaminergic system. Pharmacological changes in the silent period after transcranial brain stimulation in normal subjects, patients with Parkinson's disease and drug-induced parkinsonism. *Brain: A Journal of Neurology*, *117* ( Pt 2), 317–323. <https://doi.org/10.1093/brain/117.2.317>

- Qi, X., Lyu, K., Meng, L., Li, C., Zhang, H., Niu, L., Lin, Z., Zheng, H., & Tang, J. (2021). Low-Intensity Ultrasound Causes Direct Excitation of Auditory Cortical Neurons. *Neural Plasticity*, 2021, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2021/8855055>
- Rossini, P. M., Altamura, C., Ferreri, F., Melgari, J.-M., Tecchio, F., Tombini, M., Pasqualetti, P., & Vernieri, F. (2007). Neuroimaging experimental studies on brain plasticity in recovery from stroke. *Europa Medicophysica*, 43(2), 241–254.
- Rothwell, J. (2007). Transcranial magnetic stimulation as a method for investigating the plasticity of the brain in Parkinson's Disease and dystonia. *Parkinsonism and Related Disorders*, 13(SUPPL. 3), 417–420. [https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(08\)70040-3](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(08)70040-3)
- Sakai, K., Ugawa, Y., Terao, Y., Hanajima, R., Furubayashi, T., & Kanazawa, I. (1997). Preferential activation of different I waves by transcranial magnetic stimulation with a figure-of-eight-shaped coil. *Experimental Brain Research*, 113(1), 24–32. <https://doi.org/10.1007/BF02454139>
- Samuel, N., Zeng, K., Harmsen, I. E., Ding, M. Y. R., Darmani, G., Sarica, C., Santyr, B., Vetkas, A., Pancholi, A., Fomenko, A., Milano, V., Yamamoto, K., Saha, U., Wennberg, R., Rowland, N. C., Chen, R., & Lozano, A. M. (2022). Multi-modal investigation of transcranial ultrasound-induced neuroplasticity of the human motor cortex. *Brain Stimulation*, 15(6), 1337–1347. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.10.001>
- Sarica, C., Nankoo, J.-F., Fomenko, A., Grippe, T. C., Yamamoto, K., Samuel, N., Milano, V., Vetkas, A., Darmani, G., Cizmeci, M. N., Lozano, A. M., & Chen, R. (2022). Human Studies of Transcranial Ultrasound neuromodulation: A

- systematic review of effectiveness and safety. *Brain Stimulation*, 15(3), 737–746. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.05.002>
- Sasaki, R., Nakagawa, M., Tsuiki, S., Miyaguchi, S., Kojima, S., Saito, K., Inukai, Y., Masaki, M., Otsuru, N., & Onishi, H. (2017). Regulation of primary motor cortex excitability by repetitive passive finger movement frequency. *Neuroscience*, 357, 232–240. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.06.009>
- Sato, T., Shapiro, M. G., & Tsao, D. Y. (2018). Ultrasonic Neuromodulation Causes Widespread Cortical Activation via an Indirect Auditory Mechanism. *Neuron*, 98(5), 1031-1041.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.05.009>
- Schrag, A., Sampaio, C., Counsell, N., & Poewe, W. (2006). Minimal clinically important change on the unified Parkinson's disease rating scale. *Movement Disorders*, 21(8), 1200–1207. <https://doi.org/10.1002/mds.20914>
- Semmler, J. G., Hand, B. J., Sasaki, R., Merkin, A., & Opie, G. M. (2021). Age-related changes in motor cortex plasticity assessed with non-invasive brain stimulation: An update and new perspectives. *Experimental Brain Research*, 239(9), 2661–2678. <https://doi.org/10.1007/s00221-021-06163-z>
- Shamli Oghli, Y., Grippe, T., Arora, T., Hoque, T., Darmani, G., & Chen, R. (2023). Mechanisms of theta burst transcranial ultrasound induced plasticity in the human motor cortex. *Brain Stimul*, 16(4), 1135–1143. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2023.07.056>
- Sharabi, S., Daniels, D., Last, D., Guez, D., Zivli, Z., Castel, D., Levy, Y., Volovick, A., Grinfeld, J., Rachmilevich, I., Amar, T., Mardor, Y., & Harnof, S. (2019). Non-thermal focused ultrasound induced reversible reduction of essential

tremor in a rat model. *Brain Stimulation*, 12(1), 1–8.

<https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.08.014>

Sheikov, N., McDannold, N., Vykhodtseva, N., Jolesz, F., & Hynynen, K. (2004).

Cellular mechanisms of the blood-brain barrier opening induced by ultrasound in presence of microbubbles. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 30(7), 979–989. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2004.04.010>

Shirota, Y., Ohminami, S., Tsutsumi, R., Terao, Y., Ugawa, Y., Tsuji, S., & Hanajima,

R. (2019). Increased facilitation of the primary motor cortex in de novo Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, 66, 125–129.

<https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2019.07.022>

Shriki, J. (2014). Ultrasound Physics. *Critical Care Clinics*, 30(1), 1–24.

<https://doi.org/10.1016/j.ccc.2013.08.004>

Siebner, H. R., Funke, K., Aberra, A. S., Antal, A., Bestmann, S., Chen, R., Classen,

J., Davare, M., Di Lazzaro, V., Fox, P. T., Hallett, M., Karabanov, A. N.,

Kesselheim, J., Beck, M. M., Koch, G., Liebetanz, D., Meunier, S., Miniussi,

C., Paulus, W., ... Ugawa, Y. (2022). Transcranial magnetic stimulation of the

brain: What is stimulated? – A consensus and critical position paper. *Clinical Neurophysiology*, 140, 59–97. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2022.04.022>

Sorum, B., Rietmeijer, R. A., Gopakumar, K., Adesnik, H., & Brohawn, S. G. (2021).

Ultrasound activates mechanosensitive TRAAK K<sup>+</sup> channels through the lipid membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(6),

e2006980118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2006980118>

Spagnolo, F., Coppi, E., Chieffo, R., Straffi, L., Fichera, M., Nuara, A., Gonzalez-

Rosa, J., Martinelli, V., Comi, G., Volontè, M. A., & Leocani, L. (2013).

Interhemispheric balance in Parkinson's disease: A transcranial magnetic

stimulation study. *Brain Stimulation*, 6(6), 892–897.

<https://doi.org/10.1016/j.brs.2013.05.004>

Speranza, L., di Porzio, U., Viggiano, D., de Donato, A., & Volpicelli, F. (2021).

Dopamine: The Neuromodulator of Long-Term Synaptic Plasticity, Reward and Movement Control. *Cells*, 10(4), 735.

<https://doi.org/10.3390/cells10040735>

Stephani, C., Nitsche, M. A., Sommer, M., & Paulus, W. (2011). Impairment of motor cortex plasticity in Parkinson's disease, as revealed by theta-burst-transcranial magnetic stimulation and transcranial random noise stimulation. *Parkinsonism & Related Disorders*, 17(4), 297–298.

<https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2011.01.006>

Suppa, A., Ascii, F., & Guerra, A. (2022). Transcranial magnetic stimulation as a tool to induce and explore plasticity in humans. In *Handbook of Clinical Neurology* (Vol. 184, pp. 73–89). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819410-2.00005-9>

Suppa, A., Bologna, M., Conte, A., Berardelli, A., & Fabbrini, G. (2017a). The effect of L-dopa in Parkinson's disease as revealed by neurophysiological studies of motor and sensory functions. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 17(2), 181–192. <https://doi.org/10.1080/14737175.2016.1219251>

Suppa, A., Bologna, M., Conte, A., Berardelli, A., & Fabbrini, G. (2017b). The effect of L-dopa in Parkinson's disease as revealed by neurophysiological studies of motor and sensory functions. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 17(2), 181–192. <https://doi.org/10.1080/14737175.2016.1219251>

Suppa, A., Huang, Y.-Z., Funke, K., Ridding, M. C., Cheeran, B., Di Lazzaro, V., Ziemann, U., & Rothwell, J. C. (2016). Ten Years of Theta Burst Stimulation in

- Humans: Established Knowledge, Unknowns and Prospects. *Brain Stimulation*, 9(3), 323–335. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2016.01.006>
- Suppa, A., Marsili, L., Belvisi, D., Conte, A., Iezzi, E., Modugno, N., Fabbrini, G., & Berardelli, A. (2011). Lack of LTP-like plasticity in primary motor cortex in Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, 227(2), 296–301. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2010.11.020>
- Swanson, O. K., Semaan, R., & Maffei, A. (2021). Reduced Dopamine Signaling Impacts Pyramidal Neuron Excitability in Mouse Motor Cortex. *eNeuro*, 8(5), ENEURO.0548-19.2021. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0548-19.2021>
- Tan, C. L., Cooke, E. K., Leib, D. E., Lin, Y.-C., Daly, G. E., Zimmerman, C. A., & Knight, Z. A. (2016). Warm-Sensitive Neurons that Control Body Temperature. *Cell*, 167(1), 47-59.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.028>
- Tran, D. M. D., McNair, N. A., Harris, J. A., & Livesey, E. J. (2021). Expected TMS excites the motor system less effectively than unexpected stimulation. *NeuroImage*, 226, 117541. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.117541>
- Tyler, W. J., Tufail, Y., Finsterwald, M., Tauchmann, M. L., Olson, E. J., & Majestic, C. (2008). Remote excitation of neuronal circuits using low-intensity, low-frequency ultrasound. *PloS One*, 3(10), e3511. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003511>
- Udupa, K., Bhattacharya, A., Bhardwaj, S., Pal, P. K., & Chen, R. (2022). Parkinson's disease: Alterations of motor plasticity and motor learning. In *Handbook of Clinical Neurology* (Vol. 184, pp. 135–151). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819410-2.00007-2>

- Udupa, K., & Chen, R. (2019a). Motor cortical circuits in Parkinson disease and dystonia. In *Handbook of Clinical Neurology* (1st ed., Vol. 161). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64142-7.00047-3>
- Udupa, K., & Chen, R. (2019b). Motor cortical circuits in Parkinson disease and dystonia. In *Handbook of Clinical Neurology* (Vol. 161, pp. 167–186). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64142-7.00047-3>
- Ueki, Y., Mima, T., Ali Kotb, M., Sawada, H., Saiki, H., Ikeda, A., Begum, T., Reza, F., Nagamine, T., & Fukuyama, H. (2006). Altered plasticity of the human motor cortex in Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, *59*(1), 60–71. <https://doi.org/10.1002/ana.20692>
- Ugawa, Y., Uesaka, Y., Terao, Y., Hanajima, R., & Kanazawa, I. (1995). Magnetic stimulation over the cerebellum in humans. *Annals of Neurology*, *37*(6), 703–713. <https://doi.org/10.1002/ana.410370603>
- U.S. Food and Drug Administration. (2019). *Marketing Clearance of Diagnostic Ultrasound Systems and Transducers*.
- Wang, Z., Yan, J., Wang, X., Yuan, Y., & Li, X. (2020). Transcranial Ultrasound Stimulation Directly Influences the Cortical Excitability of the Motor Cortex in Parkinsonian Mice. *Movement Disorders*, *35*(4), 693–698. <https://doi.org/10.1002/mds.27952>
- Wankerl, K., Weise, D., Gentner, R., Rumpf, J.-J., & Classen, J. (2010). L-Type Voltage-Gated Ca<sup>2+</sup> Channels: A Single Molecular Switch for Long-Term Potentiation/Long-Term Depression-Like Plasticity and Activity-Dependent Metaplasticity in Humans. *The Journal of Neuroscience*, *30*(18), 6197–6204. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4673-09.2010>

- White, P. J., Clement, G. T., & Hynynen, K. (2006). Local frequency dependence in transcranial ultrasound transmission. *Physics in Medicine and Biology*, *51*(9), 2293–2305. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/51/9/013>
- Xia, X., Fomenko, A., Nankoo, J.-F., Zeng, K., Wang, Y., Zhang, J., Lozano, A. M., & Chen, R. (2021). Time course of the effects of low-intensity transcranial ultrasound on the excitability of ipsilateral and contralateral human primary motor cortex. *NeuroImage*, *243*, 118557. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2021.118557>
- Xu, T., Lu, X., Peng, D., Wang, G., Chen, C., Liu, W., Wu, W., & Mason, T. J. (2020). Ultrasonic stimulation of the brain to enhance the release of dopamine – A potential novel treatment for Parkinson’s disease. *Ultrasonics Sonochemistry*, *63*, 104955. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104955>
- Xu, T., Wang, S., Lalchandani, R. R., & Ding, J. B. (2017). Motor learning in animal models of Parkinson’s disease: Aberrant synaptic plasticity in the motor cortex: Motor cortex plasticity in PD models. *Movement Disorders*, *32*(4), 487–497. <https://doi.org/10.1002/mds.26938>
- Yoo, S., Mittelstein, D. R., Hurt, R. C., Lacroix, J., & Shapiro, M. G. (2022). Focused ultrasound excites cortical neurons via mechanosensitive calcium accumulation and ion channel amplification. *Nature Communications*, *13*(1), 493. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28040-1>
- Zamir, O., Gunraj, C., Ni, Z., Mazzella, F., & Chen, R. (2012). Effects of theta burst stimulation on motor cortex excitability in Parkinson’s disease. *Clinical Neurophysiology*, *123*(4), 815–821. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2011.07.051>

- Zeng, K., Darmani, G., Fomenko, A., Xia, X., Tran, S., Nankoo, J., Oghli, Y. S., Wang, Y., Lozano, A. M., & Chen, R. (2021). Induction of Human Motor Cortex Plasticity by Theta Burst Transcranial Ultrasound Stimulation. *Annals of Neurology*, December, 26294. <https://doi.org/10.1002/ana.26294>
- Zeng, K., Darmani, G., Fomenko, A., Xia, X., Tran, S., Nankoo, J., Shamli Oghli, Y., Wang, Y., Lozano, A. M., & Chen, R. (2022). Induction of Human Motor Cortex Plasticity by Theta Burst Transcranial Ultrasound Stimulation. *Annals of Neurology*, 91(2), 238–252. <https://doi.org/10.1002/ana.26294>
- Zhang, Y., Ren, L., Liu, K., Tong, S., Yuan, T.-F., & Sun, J. (2021). Transcranial ultrasound stimulation of the human motor cortex. *iScience*, 24(12), 103429. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103429>
- Ziemann, U. (2004a). Chapter 74 LTP-like plasticity in human motor cortex. In *Supplements to Clinical Neurophysiology* (Vol. 57, pp. 702–707). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1567-424X\(09\)70410-6](https://doi.org/10.1016/S1567-424X(09)70410-6)
- Ziemann, U. (2004b). TMS and drugs. *Clinical Neurophysiology*, 115(8), 1717–1729. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2004.03.006>

## 9 ANEXOS

### 9.1 PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Todas as publicações e premiações relacionadas a esta pesquisa estão listadas a seguir:

1. Sarica C, Nankoo JF, Fomenko A, **Grippe TC**, Yamamoto K, Samuel N, Milano V, Vetkas A, Darmani G, Cizmeci MN, Lozano AM, Chen R. Human Studies of Transcranial Ultrasound neuromodulation: A systematic review of effectiveness and safety. *Brain Stimul.* 2022 May-Jun;15(3):737-746. doi:10.1016/j.brs.2022.05.002. Epub 2022 May 6. PMID: 35533835.
2. **Grippe T**, Shamli Oghli Y, Darmani G, Arora T, Sarica C, Rinchon C, Cardoso F, Lozano A, Chen R. 2023 CSCN Herbert Jasper Prize – “Neurophysiological and Clinical effects of low intensity focus ultrasound in Parkinson disease”. Melhor resumo expandido em neurofisiologia apresentado no Congresso Canadense de Neurologia.
3. Oghli YS, **Grippe T**, Darmani G, Arora T, Hoque T, Chen R. Shamli Oghli Y, Grippe T, Arora T, Hoque T, Darmani G, Chen R. Mechanisms of theta burst transcranial ultrasound induced plasticity in the human motor cortex. *Brain Stimul.* 2023 Jul-Aug;16(4):1135-1143.
4. Samuel N, Ding MYR, Sarica C, Darmani G, Harmsen IE, **Grippe T**, Chen X, Yang A, Nasrkhani N, Zeng K, Chen R, Lozano AM. Accelerated Transcranial Ultrasound Neuromodulation in Parkinson's Disease: A Pilot Study. *Mov Disord.* 2023 Oct 9. doi: 10.1002/mds.29622.
5. Kop B, Shamli Oghli Y, **Grippe T**, Nandi T, Lefkes J, Meijer S, Farboud S, Engels M, Hamani M, Null M, Radetz A, Hassan U, Darmani G, Chetverikov A, den Ouden H, Bergmann T, Chen R, & Verhagen L. Auditory confounds can drive online effects of transcranial ultrasonic stimulation in humans. *ELife* (em revisão).
6. **Grippe T**, Shamli Oghli Y, Darmani G, Arora T, Sarica C, Rinchon C, Cardoso F, Lozano A, Chen R. Effects of theta burst transcranial ultrasound stimulation on motor cortex excitability in Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis.* (em revisão).
7. Lefaucheur JP, Moro E, Shirota Y, Ugawa Y, **Grippe T**, Chen T, Benninger DH, Jabbari B, Attaripour S, Hallett M, Paulus, W Clinical Neurophysiology of the treatment of movement disorders. *Clin Neurophysiol* (em revisão)



Patients with movement disorders such as Parkinson's Disease (PD) experience symptoms including uncontrollable movements of the hand and/or arm, tremor and stiffness. Previous research studies have shown symptoms of PD are associated with abnormal communication between different brain regions.

Low-intensity focused ultrasound (LIFUS) is a technology that uses sound waves delivered to the body, and in the case of this study, to the brain. Previous research in this field has shown that the short pulses of sound waves may temporarily change the activity of brain tissue in a reversible way that does not damage or permanently affect the brain tissue. This process is called neuromodulation. However, it is not clear how LIFUS is able to temporarily change brain activity. LIFUS is being investigated as a method of non-invasive neuromodulation. If LIFUS is found to be a good method of neuromodulation, it may be used in the future for non-invasive therapies or as a valuable tool to study brain function.

**This purpose** of this study is to compare brain communication patterns of healthy individuals to patients with movement disorders using low-intensity focused ultrasound (LIFUS).

LIFUS stimulation is experimental. Experimental means that LIFUS is not used routinely in patient care.

Up to 500 people with movement disorders will be recruited for this study. We expect the study to complete in 5 years.

### **Study Design**

In this study, we will use non-invasive techniques, such as brain imaging, electroencephalography (EEG) and transcranial magnetic stimulation (TMS) to study the effects of LIFUS on different brain structures. Participants will receive short durations of both Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) alone (sham condition) and TMS in combination with LIFUS to the motor area of the brain. During the sham condition, no ultrasound energy is delivered to your brain, but a noise will be played to simulate the sound of the ultrasound. This is done so we can study any effects that LIFUS may have either alone, or in combination with TMS. TMS is a type of magnetic stimulation of the brain that causes the spinal cord and peripheral muscles to produce

neuroelectrical signals. We are using TMS because it is an established stimulation technique with predictable effects on the brain and limb movement.

### **Study Visits**

Your participation will include five (5) study visits, at least 24 hours apart. All study visits will take place at TWH. The first visit is a screening visit.

#### Screening visit #1:

The screening visit will take a maximum of 2 hours to complete.

The following information/procedures will be collected/performed:

- **Demographics:** We will collect your name, gender, month and year of birth.
- **Medical History and medication:** A complete medical and surgical history will be collected from you, including information on all medical problems or diagnoses you may have (past and present), past surgical procedures and your current medications.
- **Memory Assessment:** You may be asked to complete a short test that will measure your memory. This is done to ensure that you are eligible to participate in this study.
- **MRI (Magnetic Resonance Imaging) of brain:** MRI is a non-invasive imaging technology that produces three dimensional detailed anatomical images. If you have not previously had a MRI of the brain as a part of a separate study at Dr Robert Chen's lab, you will have an approximate 30-minute MRI scan of the brain (including set up). An MRI uses magnetic waves to take pictures of the inside of your body. You will have to lie still in an MR machine but will be able to speak to someone at all times. For MRI, you will be asked to change into scrubs (provided) and remove metallic objects that can interfere with the equipment (e.g. glasses, jewelry, makeup, nail polish, wig, etc.). You will be asked to remain as still and relaxed as possible throughout the entire scan. The purpose of this MRI is to help with positioning for the TMS-LIFUS procedure.

#### *Optional procedure:*

- **CT (Computer Tomography) scan of brain** – CT is an x-ray machine that makes computerized pictures of the inside of your brain. The purpose of this CT scan is to help determine the thickness of your skull and intensity of LIFUS to use for this study. Since CT uses radiation just like an X-Ray and comes with risks (see Risks section). This scan is an optional. If you do not choose to have a CT scan, the LIFUS intensity you receive will be based on previously established guidelines set by peer reviewed journals.

You will have a chance to designate if you want to participate in CT collection later in this form.

### Study visit #2-5

After the screening visit, we will schedule four (4) testing visits that will be a minimum 24 hours apart. The maximum time of each visit will not exceed 4 hours, regardless of the number of procedures performed. You will be given the opportunity to take short breaks during each visit, if needed.

For at least two of the four visits will you be asked to not take your regular parkinson's medication for 12 hours prior to the visit. These will be called OFF medication visits. You will be able to take your medication at the end of the OFF medication visit. For the remaining two visits, you can continue to take your regular parkinson's medication. These visits will be called ON medication. The order of Off and ON medication visits will be randomized. You will be provided with instructions about whether or not to take your medication at least 1 day before the study visit.

**In the following four visits**, you will complete a combination of the following procedures listed below. Please note that not all of the below procedures will be completed at every visit.

Clinical Assessment: A neurological assessment will be performed to measure movement disorder symptoms using clinical assessment that is routinely used in your medical appointment with the neurologist (eg: Unified Parkinson's Disease Rating Scale). This assessment will be completed at one ON and one OFF medication visits.

These assessments will be videotaped so that your symptoms may be visually analyzed (e.g., tremors in the face). Your face will appear in these videos.

TMS: We perform transcranial magnetic stimulation (TMS). TMS is a procedure that uses magnetic fields to stimulate nerve cells in the brain noninvasively. TMS is carried

out by placing a plastic-covered wire coil on the scalp or on the EEG cap covering the head. We will use permanent marker to draw marks on your scalp to correctly position the TMS coil. After the test, the marks will be wiped out using rubbing alcohol wipes. Magnetic pulses travel from the coil through the scalp and skull and cause small electrical currents in the outer part of the brain. The stimulation will also cause light twitching of the hand, arm and/or leg muscles that are controlled by the part of the brain that is being stimulated.

rTMS: The equipment and procedures for repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) are similar to TMS as described above, with the only difference being the rate at which the stimulation is delivered. rTMS is delivered at higher frequency (0.25Hz or more) and TMS is delivered at lower frequency (0.25Hz or under).

LIFUS: Once we obtain TMS measurements, we will proceed to stimulate the brain using a combination of LIFUS & TMS. The ultrasound probe will be covered by a thin layer of gel and rested on your scalp after the hair is combed away. Stimulations will involve activating the LIFUS just before, or simultaneously to TMS stimulations. You may hear a brief high-pitched sound or tingling on the scalp when it is activated.

EEG: The study includes electroencephalography (EEG) to track and record electrical activity of the brain waves. EEG recording is carried out by placing electrodes with electrode gel at different parts on the head. Sometimes EEG is collected from the whole head and for this you will have a cap placed on your head that contains many recording electrodes. We will use a permanent marker to draw small marks on your scalp to help place the EEG electrodes on your head. After the test, the marks can be easily erased using rubbing alcohol wipes. Complete removal of the electrode gel may require that you wash your hair at the end of the test.

EMG: Electromyography (EMG) is a procedure that measures electrical activity of muscles that twitch due to TMS. EMG is recorded using small sticker electrodes that are placed on your hands, arms and/or legs.

Nerve Stimulation: Nerve Stimulation is a procedure where a limb nerve is electrically stimulated at a very low intensity. This is done by attaching a small electrode on the

skin above the nerve traveling through your arm or leg which produces a muscle twitch in that area.

*Scalp Stimulation:* Scalp stimulation is a procedure where the scalp is electrically stimulated at a very low intensity. This is done by attaching a small electrode on the skin of the scalp which produces a tingling sensation on your head.

*Behavioural Tasks:* You may be asked to carry out specific movements with your fingers or arms or look at an object on a computer screen, while some of the above non-invasive techniques are performed to measure brain activity related to these movements.

***At a typical testing study visit,*** you will be seated in a comfortable chair and the TMS/LIFUS coil will be held on the surface of your head. To protect the skin from warming and to aid with sound wave transmission through the scalp, we will apply a cool gel pad between the skin ultrasound stimulator. The study team will be monitoring you throughout the study to ensure that there is no skin irritation. If there is any discomfort, the study may be halted at any time. When the coil is sending out the magnetic pulses and the LIFUS delivering sound, you will hear a tapping sound and feel muscle twitch sensations of your scalp and facial muscles that are close to the coil. These stimuli activate brain areas that control your limbs causing muscle movement that is measured by EMG stickers. During this process, brain activity may also be measured using EEG cap. You may be asked to complete behavioural tasks (listed above) at different times during the visit.

If you have participated in research studies before with Dr. Robert Chen, you may already have research data (e.g. MRI scans) that can be used for the purposes of this study. If so, you may not need to have these procedures repeated. Later in this form, you can consent to having your research data from Dr. Chen's previous studies used for this study. If your previous research data is not suitable for this study, then the study procedures will be still take place.

### **Voluntary Participation**

Your participation in this study is voluntary. You may decide not to be in this study, or to be in the study now and then change your mind later. You may leave the study at any time without affecting your care. You may refuse to answer any question you do not want to answer.

We will give you new information that is learned during the study that might affect your decision to stay in the study.

### **Withdrawal from Study**

If you decide to withdraw from the study, the information that was collected before you leave the study will still be used in order to help answer the research question. No new information will be collected without your permission.

### **Risks Related to Being in the Study**

This study has risks. Some of these risks we know about. There is also a possibility of risks that we do not know about and have not been seen in study participants to date. Please call the study doctor if you have any side effects even if you do not think it has anything to do with this study. The risks we know of are:

#### MRI scan:

MRI is painless but noisy. If you have any metal in your body, for your safety, please tell the staff. There is no radiation. Some people may feel a little 'closed-in' while inside the MRI machine, but you will be able to speak with someone at all times and can stop the test at any time. Earplugs will be provided for the noise.

#### CT scan :

CT scan has risks because it exposes you to moderate levels of radiation. One CT scan equals 70 chest x-rays.

Transcranial Magnetic Stimulation (TMS): TMS may cause some level of discomfort due to the contraction large muscles in the neck. These side effects, however, only last for a short time and are not permanent. The TMS procedure is non-invasive (does

not involve skin penetration or use of needles). The stimulation will cause muscle twitch sensations in the scalp and facial muscles close to the TMS coil, but most people who have undergone this type of stimulation do not consider this unpleasant. Occasionally (in about 5% of magnetic stimulation studies), some participants develop a headache which usually resolves spontaneously in a few hours or is relieved with simple analgesics (such as plain Tylenol; not provided). The sound emitted by TMS can be loud and a small proportion of adults experience temporary hearing loss. We will provide hearing protection that you can wear throughout the study.

Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (rTMS):

The risks of rTMS include the same risks at TMS. Additionally, it is important to note that in very rare cases seizures have been induced in participants using repetitive TMS stimulation. TMS has been used on thousands of individuals in North America and Europe since 1985 without any serious problems.

Low-Intensity Focused Ultrasound (LIFUS):

The primary side effect of LIFUS is heat production. Some participants may feel mild warming of the scalp after repeated LIFUS stimulation.

Electroencephalography (EEG): There are minimal risks with EEG. Occasionally, some subjects find the electrode cap uncomfortable. Sometimes we may have to use extra pressure with tissues, wooden dowels to ensure good electrical contact which might be uncomfortable for some people. Irritation and, rarely, scratching of the skin may cause small amount of bleeding. In case of bleeding, we will apply first aid to the site (i.e. pressure, ice, bandage).

Electromyography (EMG): You will not feel anything while the EMG is done. Since the EMG will be recorded through sticker electrodes, like bandages, these may cause your skin to become mildly irritated.

Nerve and Scalp Stimulation: There are no known long-term side effects of nerve and scalp stimulation. During nerve stimulation, some participants may experience some

discomfort in the area where the stimulation is applied. The discomfort stops once the stimulation stops.

Withholding Parkinson's Medications: You may get tired during the study. You may have temporary worsening of your disease symptoms following withdrawal of your regular Parkinson's medications. If your worsening PD symptoms become intolerable before the end of the visit, you may stop your participation at any point and take your medication.

Video Recordings of face as part of Clinical Assessment: Since your face will appear in the video recordings, it is possible that you may be identified. Absolute confidentiality cannot be guaranteed.

### **Benefits of Participating in the Study**

You will not receive direct benefit from being in this study. However, the information learned from this study may help patients with movement disorders in the future.

### **Reminders and Responsibilities:**

It is important to remember the following things during this study:

- Enrollment in other research studies should not disqualify you to taking part in the study. Please let us know if you are participating in another clinical study to ensure no possible conflict exists.
- For your safety, please let the researchers know about your pregnancy status and if your status has changed while you are participating in this study.

Furthermore, there are many reasons why the researchers may need to end your participation in the study. Some examples include:

- i) The researchers believe that it is not in your best interest to stay in the study.
- ii) You become ineligible to participate.
- iii) Your health status changes and you need treatment that is not allowed while you are taking part in the study.
- iv) The researchers have technical/equipment-related difficulties collecting the data from you.
- v) You do not follow instructions from the researchers.
- vi) The study is suspended or canceled.

### **Alternatives to Being in the Study:**

You do not have to take part in this study. Your standard of care will not be affected.

## **Confidentiality**

Your data will be shared as described in this consent form or as required by law. All personal information such as your name, address, phone number, OHIP number, and family physician's name will be removed from the data and will be replaced with a number. A list linking the number with your name will be kept by the study doctor in a secure place, separate from your file.

## Personal Health Information

If you agree to join this study, the study doctor and his/her study team will ask for your personal health information and collect only the information they need for the study. Personal health information is any information that could identify you and includes your:

- name,
- sex
- month and year of birth
- new or existing medical records that includes types, dates and results of medical tests or procedures.

Representatives of the University Health Network (UHN) including the UHN Research Ethics Board may come to the hospital to look at the study records and at your personal health information to check that the information collected for the study is correct and to make sure the study followed proper laws and guidelines.

Your participation in this study will also be recorded in your medical record at this hospital. This is for clinical safety purposes.

## Research Information in Shared Clinical Records

If you participate in this study, information about you from this research project may be stored in your hospital file and in the UHN computer system. The UHN shares the patient information stored on its computers with other hospitals and health care providers in Ontario so they can access the information if it is needed for your clinical care. The study team can tell you what information about you will be stored electronically and may be shared outside of the UHN. If you have any concerns about this, or have any questions, please contact the UHN Privacy Office at 416-340-4800, x6937 (or by email at [privacy@uhn.ca](mailto:privacy@uhn.ca)).

The study doctor will keep any personal health information about you in a secure and confidential location for 10 years. You will not be named in any reports, publications, or presentations that may come from this study.

### Video Recordings

Videos taken during this study will be stored using a code number only and will be kept for up to 5 years on a limited access password protected online network drive. The videos will remain in the possession of the investigators and are only accessible to the research team.

However, if you agree to it, the investigators may show the video clips in scientific presentations to communicate the results of this research project and to educate other health care providers.

Video clips may also be published in medical journals to distribute the results of this research.

This means that these pictures, images and recordings would be available to the public for widespread use. Since your face appears in the video, it is possible that you may be identified. At the end of this form, you will have the option to agree or disagree to the publication of the videos for these purposes.

### **Research Data for Future Research**

The researchers would like to use your research data from this study to help future research studies. This will include any information that was collected about you during your participation in this study (e.g. scans of your brain). As mentioned above, the research data will not have your personal information, and will not have any personal health information that is not listed above. Your research data will be stored and used for future research for up to 10 years. You will not be contacted regarding the future studies using your research data from this study.

You can choose to let the researchers use your research data from this study to help answer research questions for future research studies at the end of this document. If you wish to change your mind regarding the researchers using your research data for future research, please contact the study team.

### **Cost and Reimbursement**

You will not have to pay for any of the procedures involved with this study. You will be reimbursed at a rate of \$20 for the first hour of the study visit and \$10 for each

additional hour for your time. If you are travelling in from outside GTA region and your travel costs (mileage and parking) exceed \$50, you will receive full reimbursement for your travel costs.

**Rights as a Participant**

If you are harmed as a direct result of taking part in this study, all necessary medical treatment will be made available to you at no cost.

By signing this form, you do not give up any of your legal rights against the investigators, sponsor or involved institutions for compensation, nor does this form relieve the investigators, sponsor or involved institutions of their legal and professional responsibilities.

**Conflict of Interest**

Researchers have an interest in completing this study. Their interests should not influence your decision to participate in this study.

**Questions about the Study**

If you have any questions, concerns or would like to speak to the study team for any reason, please call our Clinical Research Coordinator at 416-603-5800 ext 2708.

If you have any questions about your rights as a research participant or have concerns about this study, call the Research Ethics office number at 416-581-7849. The REB is a group of people who oversee the ethical conduct of research studies. These people are not part of the study team. Everything that you discuss will be kept confidential.

**You will be given a signed copy of this consent form.**

**Consent**

This study has been explained to me and any questions I had have been answered. I know that I may leave the study at any time. I agree to the use of my information as described in this form. I agree to take part in this study

Optional CT Scan: Please check off the appropriate box below indicating your decision regarding CT scan.

I agree to participate in the CT scan procedure at visit 1 for this study:

YES       NO

Optional use of Video Recordings:

I ( ) agree / ( ) do not agree that my video may be used in scientific presentations

I ( ) agree / ( ) do not agree that my video may be published in medical journals

Consent to having Research Data used for Future Research Studies:

Yes, I agree to have my research data used for future research studies.

No, I do not agree to have my research data used for future research studies.

Consent to using Research Data from Other Studies:

If there is research data from my previous participation (e.g. MRI scans, results from study procedures) in Dr. Robert Chen's studies, I agree to the study team using it for this research study.

Yes, I agree

No, I do not agree

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Print Study Participant's Name                      Signature                      Date (dd-mm-yyyy)

My signature means that I have explained the study to the participant named above. I have answered all questions.

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Print Name of Person                      Signature                      Date (dd-mm-yyyy)

Obtaining Consent

Was the participant assisted during the consent process?  **YES**  **NO**

If **YES**, please check the relevant box and complete the signature space below:

The person signing below acted as an interpreter, and attests that the study as set out in the consent form was accurately sight translated and/or interpreted, and that interpretation was provided on questions, responses and additional discussion arising from this process.

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Print Name of Interpreter                      Signature                      Date

\_\_\_\_\_

Language

The consent form was read to the participant. The person signing below attests that the study as set out in this form was accurately explained to, and has had any questions answered.

---

Print Name of Witness

-  
Signature

---

Date

---

Relationship to Participant



Movement Disorders Patient Subject is eligible for the study only if they fulfill the following criteria:

INCLUSION CRITERIA (subject is eligible if all are checked yes)

- Diagnosed with a Movement Disorder by a Movement Disorders Neurologist  
( ) YES ( ) NO
- Age 18 – 90  
( ) YES ( ) NO
- 4 weeks on stable Movement Disorders medication treatment dose  
( ) YES ( ) NO

EXCLUSION CRITERIA (subject is eligible if all are checked no)

- Any neurologic disease in addition to Movement Disorder  
( ) YES ( ) NO
- Severe tremor or medication-induced dyskinesia  
( ) YES ( ) NO
- History of stroke or seizure  
( ) YES ( ) NO
- Presence of intracranial implants or devices  
( ) YES ( ) NO
- Presence of Cardiac pacemaker; or implantable cardioverter-defibrillator (ICD)  
( ) YES ( ) NO
- Major depression/psychiatric disorder that in the opinion of the Investigator will affect patient's understanding of study procedures and willingness to abide by all procedures during the course of the study  
( ) YES ( ) NO
- Pregnancy  
( ) YES ( ) NO

Subject is eligible to participate in TMS, LIFUS & EEG procedures

( ) YES ( ) NO

Eligibility assessment completed by (Name): \_\_\_\_\_

Signature:

Date:

**9.4 FORMULÁRIO PARA COLETA DE DADOS CLÍNICOS DOS PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON**

**REB # 20-5740: Investigating the neural mechanisms of movement disorders with low-intensity focused ultrasound stimulation**

**Sub-Study: Effects of Low-intensity Transcranial Focused Ultrasound (LIFUS) in Parkinson's Disease cortical activity**

(FUS-TMS in PD Project)

**SUBJECT ID:** \_\_\_\_\_

**Date of Study (dd-mmm-yyyy):** \_\_\_\_\_

**Visit #:** \_\_\_\_\_

**Medication Status (Circle One):** ON / OFF

<b>Date &amp; Time of last medication dose:</b>	
<b>Medications taken:</b>	
<b>Side of initial symptom:</b>	
<b>Initial symptom:</b>	
<b>Other comorbidities:</b>	

Modified Hoehn and Yahr Stage

(circle the appropriate rating)

STAGE 0 = No signs of disease.

STAGE 1= Unilateral disease.

STAGE 1.5 = Unilateral plus axial involvement.

STAGE 2 = Bilateral disease, without impairment of balance.

STAGE 2.5 = Mild bilateral disease, with recovery on pull test.

STAGE 3 = Mild to moderate bilateral disease; some postural instability; physically independent.

STAGE 4 = Severe disability; still able to walk or stand unassisted.

STAGE 5 = Wheelchair bound or bedridden unless aided.

<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1.5</b>	<b>2</b>	<b>2.5</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
----------	----------	------------	----------	------------	----------	----------	----------

## **UPDRS III (Motor) EXAMINATION SESSION 1:**

### **18. Speech**

0 = Normal.

1 = Slight loss of expression, diction and/or volume.

2 = Monotone, slurred but understandable; moderately impaired.

3 = Marked impairment, difficult to understand.

4 = Unintelligible.

### **19. Facial expression**

0 = Normal.

1 = Minimal hypomimia, could be normal "Poker Face".

2 = Slight but definitely abnormal diminution of facial expression.

3 = Moderate hypomimia; lips parted some of the time.

4 = Masked or fixed facies with severe or complete loss of facial expression; lips parted ¼ inch or more.

### **20. Tremor at rest**

0 = Absent.

1 = Slight and infrequently present.

2 = Mild in amplitude and persistent. Or moderate in amplitude, but only intermittently present.

3 = Moderate in amplitude and present most of the time.

4 = Marked in amplitude and present most of the time.

Face

RUE

LUE

RLE LLE **21. Action or postural tremor of hand**

0 = Absent.

1 = Slight; present with action.

2 = Moderate in amplitude, present with action.

3 = Moderate in amplitude with posture holding as well as action.

4 = Marked in amplitude; interferes with feeding.

R L **22. Rigidity**

0 = Absent.

1 = Slight or detectable only when activated by mirror or other movements.

2 = Mild to moderate.

3 = Marked, but full range of motion easily achieved.

4 = Severe, range of motion achieved with difficulty.

Neck RUE LUE RLE LLE **23. Finger taps**

0 = Normal.

1 = Mild slowing and/or reduction in amplitude.

2 = Moderately impaired. Definite and early fatiguing. May have occasional arrests in movement.

3 = Severely impaired. Frequent hesitation in initiating movements or arrests in ongoing movement.

4 = Can barely perform the task.

R L **24. Hand movements**

0 = Normal.

1 = Mild slowing and/or reduction in amplitude.

2 = Moderately impaired. Definite and early fatiguing. May have occasional arrests in movement.

R

3 = Severely impaired. Frequent hesitation in initiating movements or arrests in ongoing movement.

L

4 = Can barely perform the task.

## 25. Rapid alternating movements of hands

0 = Normal.

1 = Mild slowing and/or reduction in amplitude.

2 = Moderately impaired. Definite and early fatiguing. May have occasional arrests in movement.

3 = Severely impaired. Frequent hesitation in initiating movements or arrests in ongoing movement.

4 = Can barely perform the task.

R

L

## 26. Leg agility

0 = Normal.

1 = Mild slowing and/or reduction in amplitude.

2 = Moderately impaired. Definite and early fatiguing. May have occasional arrests in movement.

3 = Severely impaired. Frequent hesitation in initiating movements or arrests in ongoing movement.

4 = Can barely perform the task.

R

L

## 27. Arising from chair

0 = Normal.

1 = Slow; or may need more than one attempt.

2 = Pushes self up from arms of seat.

3 = Tends to fall back and may have to try more than one time, but can get up without help.

4 = Unable to arise without help.

## 28. Posture

0 = Normal erect.

1 = Not quite erect, slightly stooped posture; could be normal for older person.

2 = Moderately stooped posture, definitely abnormal; can be slightly leaning to one side.

3 = Severely stooped posture with kyphosis; can be moderately leaning to one side.

4 = Marked flexion with extreme abnormality of posture.

## 29. Gait

0 = Normal.

1 = Walks slowly, may shuffle with short steps, but no festination (hastening steps) or propulsion.

2 = Walks with difficulty, but requires little or no assistance; may have some festination, short steps, or propulsion.

3 = Severe disturbance of gait, requiring assistance.

4 = Cannot walk at all, even with assistance.

### 30. Postural stability

0 = Normal.

1 = Retropulsion, but recovers unaided.

2 = Absence of postural response; would fall if not caught by examiner.

3 = Very unstable, tends to lose balance spontaneously.

4 = Unable to stand without assistance.

### 31. Body bradykinesia and hypokinesia

0 = None.

1 = Minimal slowness, giving movement a deliberate character; could be normal for some persons. Possibly reduced amplitude.

2 = Mild degree of slowness and poverty of movement which is definitely abnormal. Alternatively, some reduced amplitude.

3 = Moderate slowness, poverty or small amplitude of movement.

4 = Marked slowness, poverty or small amplitude of movement.

**TOTAL:**

**UPDRS III (Motor) EXAMINATION SESSION 2:****18. Speech**

- 0 = Normal.  
 1 = Slight loss of expression, diction and/or volume.  
 2 = Monotone, slurred but understandable; moderately impaired.  
 3 = Marked impairment, difficult to understand.  
 4 = Unintelligible.

**19. Facial expression**

- 0 = Normal.  
 1 = Minimal hypomimia, could be normal "Poker Face".  
 2 = Slight but definitely abnormal diminution of facial expression.  
 3 = Moderate hypomimia; lips parted some of the time.  
 4 = Masked or fixed facies with severe or complete loss of facial expression; lips parted  $\frac{1}{4}$  inch or more.

**20. Tremor at rest**

- 0 = Absent.  
 1 = Slight and infrequently present.  
 2 = Mild in amplitude and persistent. Or moderate in amplitude, but only intermittently present.  
 3 = Moderate in amplitude and present most of the time.  
 4 = Marked in amplitude and present most of the time.

Face RUE LUE RLE LLE **21. Action or postural tremor of hand**

- 0 = Absent.  
 1 = Slight; present with action.  
 2 = Moderate in amplitude, present with action.  
 3 = Moderate in amplitude with posture holding as well as action.  
 4 = Marked in amplitude; interferes with feeding.

R L

**22. Rigidity**

0 = Absent.

1 = Slight or detectable only when activated by mirror or other movements.

2 = Mild to moderate.

3 = Marked, but full range of motion easily achieved.

4 = Severe, range of motion achieved with difficulty.

Neck

RUE

LUE

RLE

LLE

**23. Finger taps**

0 = Normal.

1 = Mild slowing and/or reduction in amplitude.

2 = Moderately impaired. Definite and early fatiguing. May have occasional arrests in movement.

3 = Severely impaired. Frequent hesitation in initiating movements or arrests in ongoing movement.

4 = Can barely perform the task.

R

L

**24. Hand movements**

0 = Normal.

1 = Mild slowing and/or reduction in amplitude.

2 = Moderately impaired. Definite and early fatiguing. May have occasional arrests in movement.

3 = Severely impaired. Frequent hesitation in initiating movements or arrests in ongoing movement.

4 = Can barely perform the task.

R

L

**25. Rapid alternating movements of hands**

0 = Normal.

1 = Mild slowing and/or reduction in amplitude.

2 = Moderately impaired. Definite and early fatiguing. May have occasional arrests in movement.

3 = Severely impaired. Frequent hesitation in initiating movements or arrests in ongoing movement.

4 = Can barely perform the task.

R

L

**26. Leg agility**

0 = Normal.

1 = Mild slowing and/or reduction in amplitude.

2 = Moderately impaired. Definite and early fatiguing. May have occasional arrests in movement.

3 = Severely impaired. Frequent hesitation in initiating movements or arrests in ongoing movement.

4 = Can barely perform the task.

R

L

## 27. Arising from chair

0 = Normal.

1 = Slow; or may need more than one attempt.

2 = Pushes self up from arms of seat.

3 = Tends to fall back and may have to try more than one time, but can get up without help.

4 = Unable to arise without help.

## 28. Posture

0 = Normal erect.

1 = Not quite erect, slightly stooped posture; could be normal for older person.

2 = Moderately stooped posture, definitely abnormal; can be slightly leaning to one side.

3 = Severely stooped posture with kyphosis; can be moderately leaning to one side.

4 = Marked flexion with extreme abnormality of posture.

## 29. Gait

0 = Normal.

1 = Walks slowly, may shuffle with short steps, but no festination (hastening steps) or propulsion.

2 = Walks with difficulty, but requires little or no assistance; may have some festination, short steps, or propulsion.

3 = Severe disturbance of gait, requiring assistance.

4 = Cannot walk at all, even with assistance.

## 30. Postural stability

0 = Normal.

1 = Retropulsion, but recovers unaided.

2 = Absence of postural response; would fall if not caught by examiner.

3 = Very unstable, tends to lose balance spontaneously.

4 = Unable to stand without assistance.

### 31. Body bradykinesia and hypokinesia

0 = None.

1 = Minimal slowness, giving movement a deliberate character; could be normal for some persons. Possibly reduced amplitude.

2 = Mild degree of slowness and poverty of movement which is definitely abnormal. Alternatively, some reduced amplitude.

3 = Moderate slowness, poverty or small amplitude of movement.

4 = Marked slowness, poverty or small amplitude of movement.

**TOTAL:**

**Blinded UPDRS assessments Completed By:**

---

PRINT Researcher's Name

---

Researcher's Signature

---

Date (dd-mmm-yyyy)

## 9.5 ARTIGO SUBMETIDO EM REVISÃO

manuscripttrackingssystem

npj | parkinson's disease

[tracking system home](#) | [submission guidelines](#) | [reviewer instructions](#) | [help](#) | [logout](#) | [journal home](#)

## Detailed Status Information

<b>Manuscript #</b>	<a href="#">NPJPARKD-02383</a>
<b>Current Revision #</b>	0
<b>Submission Date</b>	19th Oct 23 17:23:52
<b>Current Stage</b>	Manuscript Under Consideration
<b>Title</b>	Effects of theta burst transcranial ultrasound stimulation on motor cortex excitability in Parkinson's disease
<b>Running Head</b>	Theta burst ultrasound in Parkinson's disease
<b>Manuscript Type</b>	Article
<b>Collections</b>	Invasive and non-invasive neuromodulation in movement disorders
<b>Word Count</b>	5114
<b>Corresponding Author</b>	Dr Talyta Grippe (talyta.cortezgrippe@uhn.ca) (University of Toronto)
<b>Contributing Authors</b>	Mr Yazan Shamli Oghli , Dr Ghazaleh Darmani , Jean-François Nankoo , Mr Nasem Raies , Dr Can Sarica , Dr Tarun Arora , Ms Carolyn Gunraj , Mandy Ding , Dr Cricia Rinchon , DiLuca Daniel , Dr Samuel Pichardo , Dr Francisco Cardoso , Andres Lozano , Dr Robert Chen
<b>Authorship</b>	Yes
<b>Abstract</b>	<p>Low-intensity transcranial ultrasound stimulation (TUS) is a novel non-invasive brain stimulation technique that can modulate brain activity with high spatial specificity. Previous studies showed that TUS delivered in a theta burst pattern, known as theta burst TUS (tbTUS), increased motor cortex excitability up to 30 minutes due to long-term potentiation-like plasticity. Studies using other forms of non-invasive brain stimulation suggested that cortical plasticity may be impaired in patients with Parkinson's disease (PD), but the results were variable. We hypothesized that tbTUS induced plasticity would be reduced in PD patients off medication but would be restored by dopaminergic medications in the on-medication state. We studied 20 moderately affected PD patients in on and off dopaminergic medication states (13 with dyskinesia and 7 without dyskinesia) on separate days in random order, and 17 age-matched healthy controls in a case-controlled study. tbTUS was applied for 80 seconds to the motor cortex. Motor evoked potential (MEP), short-interval intracortical inhibition (SICI) and short-interval intracortical facilitation (SICF) were recorded at baseline, and at 5 minutes (T5), T30 and T60 after tbTUS. Motor section of Unified Parkinson's Disease Rating Scale (mUPDRS) was measured at baseline and T60. tbTUS significantly increased MEP amplitude at T30 compared to baseline in controls and in PD patients on medications, but not in PD patients off medications. The bradykinesia sub-score of mUPDRS was reduced at T60 compared to baseline in PD patients on medication but not in the off medication state. tbTUS did not change in SICI or SICF. The presence of dyskinesia did not affect plasticity induced by tbTUS. Our findings suggest that tbTUS induced long-term potentiation-like plasticity is impaired in PD patients off medications and is restored by dopaminergic medications. Multiple sessions of tbTUS can be further studied as a potential treatment for PD motor symptoms.</p>
<b>Subject Terms</b>	Health sciences/Neurology/Neurological disorders/Parkinson's disease Biological sciences/Physiology/Neurophysiology
<b>Research Square author dashboard</b>	I understand that my manuscript and associated personal data will be shared with Research Square for the delivery of the author dashboard.
<b>Preprint Deposition</b>	No, my co-authors and I would not like to benefit from <i>In Review</i>
<b>Competing interests policy</b>	There is no conflict of interest
<b>Clinical Trial</b>	No
<b>Applicable Funding Source</b>	Gouvernement du Canada   Instituts de Recherche en Santé du Canada   CIHR Skin Research Training Centre (Skin Research Training Centre) - 154292 [Grippe]
<b>Previous Interactions</b>	Interaction with a member of the editorial team at a conference

Stage	Start Date
Manuscript Under Consideration	20th Oct 23 02:09:48
Editor Assigned	19th Oct 23 17:23:52
Manuscript Received	19th Oct 23 17:23:51

 eJournalPress

[tracking system home](#) | [privacy policy](#) | [cookie policy](#) | [manage cookies](#)

