

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**FACULDADE DE NUTRIÇÃO**  
**MESTRADO EM NUTRIÇÃO**

***EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR  
CORRENTE CONTÍNUA SOBRE A VARIABILIDADE DA  
FREQUÊNCIA CARDÍACA DE MULHERES  
HIPERTENSAS***

**LUÍS PAULO DE SOUZA GOMES**

**MACEIÓ-2011**

**LUÍS PAULO DE SOUZA GOMES**

***EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR  
CORRENTE CONTÍNUA SOBRE A VARIABILIDADE DA  
FREQUÊNCIA CARDÍACA DE MULHERES  
HIPERTENSAS***

Dissertação apresentada à  
Faculdade de Nutrição da  
Universidade Federal de Alagoas  
como requisito à obtenção do  
título de Mestre em Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Amândio Aristides Rihan Gerales  
Centro de Educação – Educação Física  
Universidade Federal de Alagoas

Co-Orientador: Prof. Dr. Alexandre Hideki Okano  
Departamento de Educação Física  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

**MACEIÓ- 2011**



**MESTRADO EM NUTRIÇÃO**  
**FACULDADE DE NUTRIÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**



Campus A. C. Simões  
BR 104, km 14, Tabuleiro dos Martins  
Maceió-AL 57072-970  
Fone/fax: 81 3214-1160

---

**PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE  
DISSERTAÇÃO**

***EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR  
CORRENTE CONTÍNUA SOBRE A VARIABILIDADE DA  
FREQUÊNCIA CARDÍACA DE MULHERES  
HIPERTENSAS***

por

***Luís Paulo de Souza Gomes***

A Banca Examinadora, reunida ao 1º dia do mês de julho do ano de 2011, considera o(a) candidato(a) **APROVADO(A)**.

---

Prof. Dr. Amândio Aristides Rihan Geraldes  
Universidade Federal de Alagoas  
(Orientador)

---

Prof. Dr. Eduardo Seixas Prado  
Universidade Federal de Alagoas  
(Examinador)

---

Profª. Dra. Kátia Karina do Monte Silva  
Universidade Federal de Pernambuco  
(Examinadora)

*"Deixar que os fatos sejam fatos naturalmente, sem que sejam forçados para acontecer. Deixar que os olhos vejam pequenos detalhes lentamente. Deixar que as coisas que lhe circundam estejam sempre inertes, como móveis inofensivos, pra lhe servir quando for preciso, e nunca lhe causar danos morais, físicos ou psicológicos"*

*Chico Science*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus,

Muito obrigado por me conduzir com sabedoria ao fim dessa jornada. Eu agradeço também pela existência daqueles que não me ajudaram e não me fizeram muito bem ao longo dessa caminhada, abençoa-os senhor, para que vivam em paz.

Agradeço aos meus pais, pelo amor e apoio incondicional. Juntamente com meus irmãos pele ajuda nos momentos mais difíceis dessa jornada.

Agradeço também a todos os familiares e amigos que me acolheram de braços abertos em Maceió.

A minha querida esposa Jane, pela paciência e compreensão.

A todos os colegas do mestrado, por terem me ajudado, compartilhando tantos momentos de tensão.

Agradeço a minha grande amiga Isis Suruagy pelo companheirismo e cumplicidade ao longo dessa jornada.

Ao orientador Prof. Dr. Amândio, pelo seu comprometimento e contribuição, com sua vasta experiência como pesquisador.

Ao Prof. Dr. Eduardo Seixas, pela grande disponibilidade e constante incentivo. Obrigado por guiar meus passos acadêmicos da graduação até aqui, sem a sua ajuda nada disso seria possível.

Ao professor Dr. Alexandre Okano por me conceder a oportunidade de superar um desafio sem precedentes. Obrigado pela idéia geral do projeto.

Agradeço a FAPEAL/CAPES pela concessão de bolsa de estudo.

A todas as voluntárias, por terem participado do projeto.

## RESUMO

A estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) é uma técnica neuromodulatória capaz de modificar a excitabilidade cortical e supostamente modular a atividade neural de áreas corticais envolvidas na regulação autonômica, como o córtex pré-frontal medial (CPFM) e o córtex insular (CI). Com relação ao SNA, existem evidências de hiper-ativação simpática em pessoas com HAS. Para colaborar com a discussão, esta dissertação foi dividida da seguinte forma: o primeiro capítulo intitulado de “Variabilidade da frequência cardíaca (VFC): métodos de análise e sua aplicabilidade”, sendo constituído por um artigo de revisão, objetivando a fundamentação teórica a respeito dos métodos de avaliação da VFC e suas perspectivas de utilização. O segundo capítulo é composto por um artigo original intitulado: “Efeitos da estimulação transcraniana por corrente contínua sobre a variabilidade da frequência cardíaca de mulheres hipertensas”. Neste estudo foi aplicada a ETCC anódica, catódica e simulada (*sham*), separadamente, sobre o lobo temporal esquerdo (T3) de mulheres hipertensas e evidenciou aumentos significativos na atividade parassimpática, somente com a aplicação da ETCC catódica. Todavia, não se pode afirmar qual área específica do cérebro foi responsável pelas variações na VFC, pois, os dois eletrodos estavam sobre regiões envolvidas no controle autonômico e ainda não sabemos qual o real impacto da estimulação bipolar no cérebro sobre parâmetros fisiológicos. Embora haja limitações, nossos resultados podem auxiliar no desenvolvimento de uma nova ferramenta para explorar de forma não invasiva o sistema

nervoso autônomo, e até mesmo abrir novas perspectivas terapêuticas para tratamento de seus distúrbios como é o caso da hipertensão.

**Palavras-chave:** estimulação cerebral, regulação autonômica, hipertensão arterial.

.

## **ABSTRACT**

The transcranial direct current stimulation (tDCS) is a neuromodulatory technique able to modify cortical excitability and presumably modulate the neural activity of cortical areas involved in autonomic regulation, such as the medial prefrontal cortex (MFPC) and insular cortex (IC). Regarding the ANS, there is evidence of hyper-sympathetic activation in people with HTN. To contribute to the discussion, this thesis was divided as follows: The first chapter titled "Heart rate variability (HRV): analytical methods and their applicability " consists of a review article, aiming at the theoretical foundation about methods of assessment of HRV and its prospects for use. The second chapter consists of an original paper entitled "Effect of transcranial direct current stimulation on heart rate variability in hypertensive women". This research applied anodal tDCS, cathodic and simulated (sham) separately on the left temporal lobe (T3) of hypertensive women showed significant increases in parasympathetic activity, only with the application of cathodic tDCS. However, one cannot say which specific area of the brain was responsible for variations in HRV, since the two electrodes were about regions involved in autonomic control and still not know what the real impact of bipolar stimulation on brain physiology. Although there are limitations, our results may assist in developing a new tool to explore noninvasively the autonomic nervous system, and even open new therapeutic perspectives for treatment of their disorders such as hypertension.

**Keywords:** brain stimulation, autonomic regulation, arterial hypertension.

## LISTA DE FIGURAS

### 1º Artigo: artigo de revisão

### Página

- Figura 1** Tacograma de um adulto jovem normal (A) e de um recém-nascido normal (B). A VFC está bem mais reduzida no painel B do que no painel A..... 27
- Figura 2** Exemplo de histograma do intervalo RR..... 32
- Figura 3** Poincaré de um adulto jovem normal (A) e de um recém-nascido normal (B). A dispersão tanto de curto (SD1) quanto de longo prazo (SD2) no painel B está menor do que no painel A..... 34
- Figura 4** Gráfico representativo das quatro faixas principais que compõe a potência total de uma análise espectral obtida de Holter 24h. Observar que as faixas ULF e VFL (significado fisiológico ainda não determinado) são proporcionalmente maiores que as de LF e HF (utilizadas usualmente na maioria dos trabalhos)..... 36
- Figura 5** Análise espectral de frequências (Fast Fourier Transform) de um adulto jovem normal (A) e de um recém-nascido normal (B). O componente de alta frequência (HF) está proporcionalmente bem mais reduzido no recém-nascido (setas) assim como a potência total..... 37

### 2º Artigo: artigo original

- Figura 1** Desenho experimental dos procedimentos adotados durante os quatro dias de visita. O registro da VFC inicia junto com os 15 min. de repouso (basal) e permanece durante todo o protocolo. Em seguida foi aplicada a ETCC anódica/catódica ou simulada (*sham*) durante 20 minutos. Após a ETCC as voluntárias permaneceram mais 15 min. de repouso ainda com registro da VFC..... 58
- Figura 2** Valores do intervalo de pulso nas condições de ETCC anódica, *sham* e catódica..... 60

<b>Figura 3</b>	Valores de RMSSD nas condições de ETCC anódica, <i>sham</i> e catódica.....	61
<b>Figura 4</b>	Valores de LF/HF nas condições de ETCC anódica, <i>sham</i> e catódica.....	61

## LISTA DE TABELAS

<b>1º Artigo: artigo de revisão</b>	<b>Página</b>
<b>Tabela 1</b> Definição dos índices de VFC no domínio do tempo.....	31

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ANOD** – Anódica.

**ApEn** - Entropia aproximada

**CCM** - Medida de Correlação Complexa

**CD** - Dimensão de correlação

**CI** - Córtex insular

**CPF** - Córtex pré-frontal

**CPFM** - Córtex pré-frontal medial

**CSM** - Córtex sensoriomotor

**CZ** – Vértex.

**DFA** - Análise destendenciada da flutuação

**ECG** – Eletrocardiograma

**EEG** – Eletroencefalograma

**ETCC** – Estimulação transcraniana por corrente contínua.

**FC** – Frequência cardíaca.

**FD** - Dimensão fractal

**HAS** - Hipertensão arterial sistêmica

**HE** - Expoente de Hurst

**HF** - Espectro de alta frequência

**iRR** - Intervalos R-R médios

**LF** - Espectro de baixa frequência

**LF/HF** – relação entre LF e HF

**PA** - Pressão arterial

**pNN50** - Percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 milissegundos de seu adjacente

**PSF** - Programa saúde da família

**QRS** – Complexo de ondas do eletrocardiograma

**RMSSD** - Raiz quadrada da soma das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado

**RR** - Tempo transcorrido entre duas ondas R consecutivas de um ciclo cardíaco

**SD1** – Desvio padrão dos intervalos R-R instantâneos

**SD2** – Desvio padrão dos intervalos R-R analisados em longo prazo

**SDANN** - Desvio padrão das médias dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5min.

**SDNN** - Desvio padrão de todos os intervalos RR normais

**SDNNi** - Média dos desvios padrões dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5min.

**SHAM** – Simulada.

**SNA** - Sistema nervoso autônomo

**SNC** – Sistema nervoso central

**T3** – Córtex temporal esquerdo

**ULF** - Espectro ultra baixa frequência

**VFC** - Variabilidade da frequência cardíaca

**VLF** – Espectro de muito baixa frequência

**VS** – Versus

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>16</b>
<b>2. COLETÂNEA DE ARTIGOS.....</b>	<b>21</b>
<b>2.1. 1º artigo: artigo de revisão</b> <i>Variabilidade da frequência cardíaca: métodos de análise e sua aplicabilidade.....</i>	22
<b>2.2. 2º artigo: artigo original</b> <i>Efeito da estimulação transcraniana por corrente contínua sobre a variabilidade da frequência cardíaca de mulheres hipertensas.....</i>	49
<b>3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>71</b>
<b>4. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>74</b>
<b>5. APÊNDICES.....</b>	<b>78</b>

**1 INTRODUÇÃO GERAL**

As flutuações do Sistema Nervoso Autônomo (SNA) desempenham um papel importante na modulação da eletrofisiologia cardíaca normal<sup>1</sup>. Esse processo neural de regulação cardíaca extrínseco é regulado por subdivisões do SNA: Sistema Nervoso Simpático (SNS) e Sistema Nervoso Parassimpático (SNP)<sup>1</sup>. Estes componentes operam em frequências diferentes, ocasionando variações nos batimentos cardíacos que podem ser identificadas e quantificadas por meio de oscilações no tempo transcorrido entre duas ondas R consecutivas do ciclo cardíaco (intervalos R-R), caracterizando assim a Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC)<sup>2,3,4</sup>.

Pacientes com hipertensão arterial sistêmica (HAS) possuem decréscimo na VFC e redução da sensibilidade barorreflexa, essas alterações fisiológicas podem levar a efeitos deletérios sobre órgãos-alvo<sup>5,6,7</sup>. A relação entre atividade cerebral e o controle autonômico da Frequência Cardíaca (FC) têm sido investigada. Em estudos realizados com modelos animais, demonstram que a estimulação elétrica direta das diferentes estruturas do tronco encefálico e córtex cerebral, podem alterar, significativamente a FC<sup>8,9</sup>.

Nesse sentido, Oppenheimer *et al.*<sup>10</sup>, através de estimulação elétrica direta no córtex insular (CI) direito humano, verificaram uma maior resposta cardiovascular simpática com aumento na FC. Por outro lado, a estimulação do CI esquerdo, promoveu uma maior atividade parassimpática reduzindo a FC, sugerindo uma divisão de tarefas entre os lobos temporais. Baseado no fato de que regiões corticais mais altas do cérebro modulam e influenciam os processos subcorticais<sup>11</sup>, originou-se a hipótese de que a estimulação cerebral não-invasiva sobre estas áreas, também poderia promover os mesmos efeitos<sup>12,13,14</sup>.

Os primeiros registros da terapia elétrica datam de 43-48 DC, com o uso de peixes elétricos no tratamento da dor<sup>15,16</sup>. Também se destacam as experiências com eletricidade em animais e humanos realizadas por Galvani's e Volta, em meados de 1790, que iniciou a aplicação clínica de estimulação de corrente contínua<sup>18</sup>. No entanto, somente após décadas de estudos sobre os efeitos da estimulação elétrica e seus aspectos de segurança é que surgiram as técnicas atuais, metodologicamente mais eficientes e seguras, como é o caso da estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC)<sup>15,16,17</sup>.

A ETCC é uma técnica neuromodulatória que utiliza uma clássica montagem bicefálica, caracterizada pela colocação de um par de eletrodos (anodo e catodo), sobre a região do córtex onde, o estímulo da corrente anódica aumenta a excitabilidade cortical, enquanto o estímulo da corrente catódica tem o efeito contrário. Tem-se demonstrado que tais efeitos persistem por um longo período após cessar o estímulo elétrico<sup>16,17</sup>.

Esta técnica é considerada segura, uma vez que, não causa efeito térmico sob os eletrodos<sup>19</sup>, não eleva os níveis de enolase específica de neurônios (marcador de dano de neurônios)<sup>15,16</sup>, não causa edemas ou alterações na barreira hematoencefálica e no tecido cerebral<sup>16</sup>. Além disso, Liebetanz *et al.*<sup>20</sup> evidenciaram que lesões no cérebro após estimulação catódica em animais, só ocorreram quando foi aplicada uma densidade de corrente total de 52400C/m<sup>2</sup>, valores estes, muito superiores aos utilizados nos protocolos utilizados com humanos, que variam entre 171 e 480 C/m<sup>2</sup>. Um dos efeitos colaterais relatado pelos sujeitos expostos à técnica, é uma leve sensação de parestesia, provocada pela passagem da corrente elétrica,

perdurando alguns segundos, nos locais onde estão localizados os eletrodo<sup>14,15</sup>.

Os conhecimentos acima citados levaram ao desenvolvimento de estudos que relacionem a ETCC e o SNA. Vandermeeren *et al.*<sup>14</sup> aplicaram ETCC anódica e catódica, separadamente, sobre o córtex frontal mediano em sujeitos saudáveis e não verificaram diferenças na modulação autonômica. Por outro lado, um estudo realizado em atletas e não atleta observou que a ETCC anódica, quando aplicada no lobo temporal esquerdo foi capaz de aumentar a atividade parassimpática e, concomitantemente, reduzir o fluxo simpático nos atletas, promovendo uma melhora no balanço simpato-vagal<sup>21</sup>.

Assim, considerando que o predomínio simpático na HAS está associado a complicações cardiovasculares e que, supostamente, as técnicas não-invasivas de estimulação do cérebro podem modular o fluxo simpático influenciando a atividade neural de áreas corticais autonômicas, como o CI, o presente estudo propõe analisar o efeito da ETCC sobre a VFC de mulheres com HAS. Portanto, neste estudo, colocou-se à prova, a hipótese de que a ETCC pode auxiliar na restauração do equilíbrio autonômico, influenciando tanto o fluxo simpático quanto o parassimpático.

Para melhor entendimento do assunto, o trabalho foi dividido em dois capítulos: O primeiro capítulo é representado por um artigo de revisão, denominado “Variabilidade da frequência cardíaca: métodos de análise e sua aplicabilidade”. Esta seção do estudo trata da fundamentação teórica relativa aos métodos de avaliação da VFC, bem como, suas perspectivas de utilização. O segundo capítulo, é composto por um artigo original intitulado “Efeito da estimulação transcraniana por corrente contínua sobre a variabilidade da

frequência cardíaca de mulheres hipertensas”, trata-se de um estudo experimental, destinado a investigar o efeito da ETCC sobre a VFC em uma amostra de mulheres com HAS.



**1º artigo: artigo de revisão**

GOMES LPS; GERALDES AAR; OKANO AH. **Variabilidade da frequência cardíaca: métodos de análise e sua aplicabilidade.**

## RESUMO

**Introdução:** A partir das informações aferentes originárias de uma complexa rede de interação entre estímulo e inibição, as respostas das vias simpáticas e parassimpáticas são elaboradas para modular a frequência cardíaca (FC). Essas alterações causam oscilações entre os intervalos R-R sucessivos do ciclo cardíaco que, em conjunto, são denominadas: Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC). **Objetivo:** O presente estudo destinou-se à revisão dos métodos de avaliação da VFC e sua aplicabilidade. **Métodos:** Realizou-se uma consulta à base de dados *MEDLINE*, *LILACS* e *SCIELO*, utilizando-se os unitermos: (“*heart rate variability*” OR “*HRV*”) AND (“*autonomic nervous system*”). Foram selecionados os artigos eletrônicos publicados em português e inglês, entre 1981 e 2011. A seleção inicial foi realizada a partir dos títulos e resumos encontrados, desta forma, restaram 67 artigos que atendiam ao objetivo do estudo. **Conclusão:** Devido a sua ampla possibilidade de uso, fácil execução e boa reprodutibilidade, a análise da VFC têm se tornado uma importante ferramenta para investigar a integridade e a capacidade adaptativa do SNA às mais diversas condições, patológicas ou não.

**Palavras-chave:** sistema nervoso simpático, sistema nervoso parassimpático, frequência cardíaca.

## ABSTRACT

**Introduction:** The afferent information originating from a complex network of interaction between stimulation and inhibition, the responses of sympathetic and parasympathetic pathways are designed to modulate the heart rate (HR). These changes cause fluctuations between successive RR intervals of the cardiac cycle, which together are called: Heart Rate Variability (HRV). **Purpose:** This study aimed to review the evaluation methods of HRV and its applicability.

**Methods:** We performed a query to the database MEDLINE, LILACS and SCIELO, using the keywords: ("heart rate variability" OR "HRV") AND ("autonomic nervous system"). We selected electronic articles published in Portuguese and English, between 1981 and 2011. The initial selection was made from the titles and abstracts found, thus remaining 67 articles that met the objective of the study. **Conclusion:** Due to its wide range of use, easy to perform and reproducible, the analysis of HRV has become an important tool for investigating the integrity and adaptive capacity of SNA to various conditions, pathological or not.

**Keywords:** sympathetic nervous system, parasympathetic nervous system, heart rate.

## INTRODUÇÃO

O nodo sinusal, marcapasso natural é densamente innervado por ambas as divisões autonômicas: simpática e parassimpática. A ativação parassimpática promove a diminuição da frequência cardíaca (FC) através da mediação da acetilcolina, que possui um período de latência muito curta e alta rotatividade; dessa forma, a rápida resposta do mecanismo biológico permite que o sistema nervoso parassimpático (SNP) regule a função cardíaca batimento a batimento<sup>(1,2)</sup>.

Por outro lado, a ativação simpática resulta em um aumento da FC e da velocidade de condução elétrica, juntamente com um aumento da contratilidade. Esse processo é mediado pela liberação de noradrenalina sináptica que é reabsorvida e metabolizada de forma relativamente lenta, assim, alterações na função cardiovascular mediada por modificações na atividade simpática ocorrem em um curso de tempo mais lento<sup>(1-3)</sup>. Devido a essas alterações na função dos neurotransmissores, os dois subsistemas do SNA tendem a operar em frequências diferentes, de forma que, as variações da frequência cardíaca relacionadas, principalmente, às mudanças na atividade simpática ou parassimpática, podem ser identificadas e quantificadas<sup>(4,5,6)</sup>.

A duração de um ciclo cardíaco medido pelo tempo transcorrido entre duas ondas R consecutivas, do eletrocardiograma (intervalo R-R) não é constante, ocasionando uma oscilação entre intervalos R-R sucessivos. Esse fenômeno tem sido denominado de Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC)<sup>(2)</sup>. A VFC é predominantemente dependente da regulação extrínseca da FC, refletindo a capacidade do coração se adaptar às novas exigências, respondendo rapidamente a novos estímulos<sup>(7,8)</sup>. Embora a interpretação deste

tipo de dado exija algum cuidado, ela pode fornecer a base para uma avaliação não-invasiva e semi-quantitativa da atividade autonômica<sup>(2,9)</sup>.

Outros termos têm sido usados na literatura para descrever as oscilações dos ciclos cardíacos, como por exemplo: variabilidade da duração do ciclo, período de variabilidade do coração, variabilidade RR e tacograma de intervalo RR, entretanto, a VFC tem sido o termo mais aceito e verificado na literatura<sup>(2)</sup>. Independentemente nomenclatura, destaca-se que estão sendo analisados, os intervalos entre batimentos cardíacos consecutivos e não a frequência cardíaca isoladamente<sup>(2)</sup>.

Na Figura 1 que demonstra o tacograma de frequências de intervalo RR, obtidos de um adulto jovem saudável e de um recém-nascido, é possível observar em uma forma gráfica que a VFC de um recém-nascido é bastante reduzida, devido a sua alta FC.

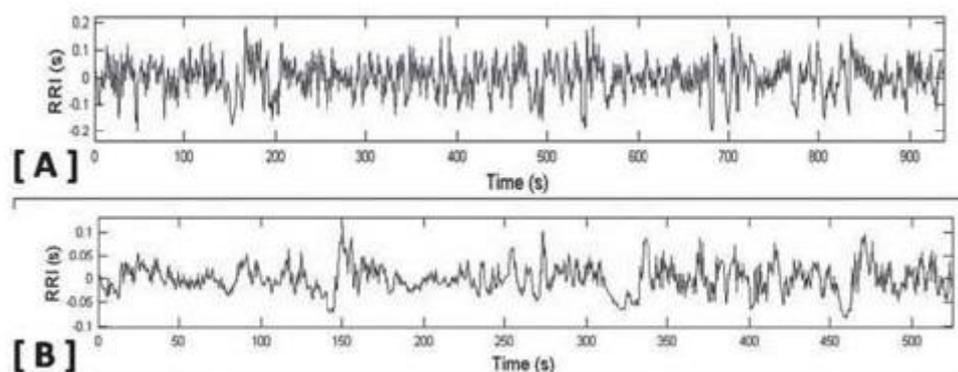


Fig. 1 Tacograma de um adulto jovem normal (A) e de um recém-nascido normal (B). A VFC está bem mais reduzida no painel B do que no painel A (VANDERLEI *et al.*, 2009)

Devido às associações observadas entre a VFC e diversos problemas de saúde física e mental, tem sido crescente o número de estudos destinados a verificar o potencial valor prognóstico desta variável <sup>(4)</sup>. Assim, o exame da flutuação da FC se constitui uma importante janela para observação da integridade do SNA<sup>(9)</sup>.

Diante do exposto, o presente estudo destinou-se à revisão da VFC destacando os métodos de análise, bem como, a sua aplicabilidade. Para tal fim, realizou-se uma consulta à base de dados *MEDLINE*, *LILACS* e *SCIELO*, utilizando-se os unitermos: (“*heart rate variability*” OR “*HRV*”) AND (“*autonomic nervous system*”). Foram selecionados os artigos eletrônicos publicados em português e inglês, entre 1981 e 2010. Além disso, utilizaram-se as referências dos artigos identificados na pesquisa eletrônica, objetivando priorizar aqueles que tratavam dos métodos de avaliação da VFC. A seleção inicial foi realizada a partir dos títulos e resumos encontrados, sendo selecionados 67 artigos que atendiam ao objetivo do estudo.

## **AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE DA FREQUENCIA CARDÍACA**

O comportamento da VFC pode ser verificado através de eletrocardiógrafos, conversores analógicos digitais e os cardiofrequencímetros, que adquirem o sinal a partir de sensores externos, colocados em pontos específicos do corpo<sup>(10)</sup>. Embora o *Powerlab*, conversor analógico digital, sensível às alterações multimodais de biosinais seja considerado o padrão-ouro para a mensuração do eletrocardiograma (ECG) de alta fidelidade, cujos sinais captados são transferidos para um computador e analisados após filtragem<sup>(11)</sup>, existem limitações quanto a sua aplicabilidade em situações

externas ao ambiente laboratorial, como por exemplo: em condições de treinamento físico<sup>(12,13)</sup>.

Devido aos avanços na tecnologia telemétrica, atualmente, existem sistemas de monitoramento cardíaco sem fios, capazes de gravar os intervalos RR, como é o caso do relógio *Polar S810* e *S810i*, combinado com o uso do *software Polar Precision 4.03*. Essa tecnologia de monitoramento é válida e menos custosa, constituindo-se em uma excelente alternativa, permitindo a gravação, edição e análise dos intervalos RR provenientes de medidas em curto prazo da VFC<sup>(11)</sup>.

De acordo com Kingsley *et al.*<sup>(14)</sup>, o *Polar S810i* é um monitor cardíaco que apresenta adequadas qualidades psicométricas, quando comparado com o ECG ambulatorial, nos registros em exercício de baixa intensidade em crianças. Resultados semelhantes, foram observados por Gamelin *et al.*<sup>(15)</sup> e Vanderlei *et al.*<sup>(16)</sup>, em estudos comparando os dados obtidos pelo ECG e pelo *Polar S810*, tanto em situações de exercício quanto de repouso. Este mesmo modelo de monitor também mostrou boa validade e confiabilidade na gravação dos intervalos RR quando comparado com *software CardioPerfect (Cardio Control, Delft, The Netherlands)* usando 12 derivações do ECG<sup>(14,17)</sup>. Entretanto, apesar de suas qualidades a série do *Polar S810* foi descontinuada pelo fabricante (*Polar Electro OY, Kempele, Finland*), sendo substituída pela série de monitores *RS800* que mantém a mesma tecnologia de gravação dos intervalos RR usada no *S810*, desta forma, os resultados de validade e confiabilidade podem ser estendidos a série *RS* sem nenhum prejuízo qualitativo<sup>(17)</sup>.

O uso desses monitores tem crescido bastante nos últimos anos devido a sua vantagem em relação aos outros equipamentos, como por exemplo, a facilidade de aquisição e operação, dispensando a mão de obra clínica especializada<sup>(16,18)</sup>. Entretanto, os significados e a interpretação fisiológica das diferentes medidas da VFC são bem complexos, existindo um potencial risco para conclusões erradas e extrapolações infundadas<sup>(1)</sup>.

A análise da VFC pode sofrer interferência de batimentos ectópicos prematuros, artefatos, eventos arrítmicos, falta de dados e ruídos na aquisição do sinal, porém, uma interpolação adequada (regressão linear ou algoritmos) dos batimentos sucessivos e sua função de autocorrelação podem reduzir estes erros<sup>(1)</sup>. Visto que, tais erros podem conduzir a interpretações equivocadas, a remoção dessas interferências é de suma importância para manter a integridade dos dados. Esta remoção é feita usando métodos de filtragem capazes de identificar intervalos RR anormais e corrigi-los. Além disso, as gravações de curto prazo devem ser preferencialmente usadas por estarem isentas de falta de dados, ruídos e ectopia<sup>(1,19,20)</sup>.

## **INTERPRETAÇÃO FISIOLÓGICA DA VFC**

Os índices para análise da VFC podem ser obtidos basicamente por métodos lineares e não-lineares. Os métodos lineares, no domínio do tempo, são de fácil execução, aplicação e análise, podendo fornecer importantes informações estatísticas, já os índices no domínio da frequência se baseiam na análise espectral de algumas bandas de frequências<sup>(1,21)</sup>. A outra opção de análise é representada pelos métodos não-lineares, baseados na teoria do

caos, que consideram a constituição da VFC como um fenômeno não-linear resultante de interações complexas entre as variáveis eletrofisiológicas (22,23).

### **Métodos lineares**

Os métodos lineares se dividem em análises realizadas em dois domínios: frequência e tempo. No domínio do tempo, os resultados são derivados de séries temporais e expressos em milissegundos<sup>(24)</sup>. Neste método, em um processo contínuo de gravação, cada complexo QRS do ciclo cardíaco é detectado e cada intervalo RR normal (intervalos entre os complexos QRS adjacentes resultantes da despolarização do nodo sinusal) é determinado durante certo intervalo de tempo. Em seguida, com base em métodos estatísticos ou geométricos (média, desvio padrão e índices derivados do histograma ou do mapa de coordenadas cartesianas dos intervalos RR), calculam-se os índices tradutores de flutuações na duração dos ciclos cardíacos<sup>(1,21,5)</sup>.

Na Tabela 1 estão os índices estatísticos derivados do domínio do tempo e suas respectivas definições. As siglas dos índices referem-se as abreviaturas dos termos em inglês seguindo padrão internacional proposto pelo *Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology*<sup>(1)</sup>: SDNN (*Standard deviation of all NN intervals*); SDNN index (*Mean of the standard deviations of all NN intervals for all 5 min segments of the entire recording*); SDANN (*Standard deviation of the averages of NN intervals in all 5 min segments of the entire recording*); RMSSD (*The square root of the mean of the sum of the squares of differences between*

*adjacent NN intervals*); pNN50 (*NN50 count divided by the total number of all NN intervals*).

Tabela 1. Definição dos índices de VFC no domínio do tempo

Índice	Unidade	Definição
RR médios	Ms	Média de todos os intervalos RR normais
SDNN	Ms	Desvio padrão de todos os intervalos RR normais
SDNNi	Ms	Média dos desvios padrões dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5min.
SDANN	Ms	Desvio padrão das médias dos intervalos RR normais calculados em intervalos de 5min.
RMSSD	Ms	Raiz quadrada da soma das diferenças sucessivas entre intervalos RR normais adjacentes ao quadrado
pNN50	%	Percentual de intervalos RR normais que diferem mais que 50 milissegundos de seu adjacente

Task Force<sup>(1)</sup>.

A partir dos registros de longa duração da VFC é possível se obter os índices SDNN, SDNNi e SDANN que refletem as atividades simpáticas e parassimpáticas, no entanto, estes valores não permitem identificar se a modificação da FC se deve a influência da retirada vagal ou aumento dos tónus simpático<sup>(1,25)</sup>. Por outro lado, o pNN50 e RMSSD, por considerarem diferenças entre intervalos RR adjacentes, quantificam variações rápidas da FC e representam a atividade parassimpática<sup>(7,26)</sup>.

Outra forma de análise no domínio do tempo são os métodos baseados em padrões geométricos, estes métodos apresentam os intervalos RR em formas geométricas<sup>(3)</sup>. Os mais populares dentre os métodos geométricos são a plotagem de *Lorenz (Plot de Poincaré)* e o índice triangular<sup>(5)</sup>.

O cálculo do índice triangular é obtido a partir da construção de um histograma de densidade dos intervalos RR normais, o qual mostra, no eixo

horizontal (eixo x), o número de todos os intervalos RR e, no eixo vertical (eixo y), a seqüência com que cada um deles ocorreu (Figura 2). Considerando-se que a união dos pontos das colunas do histograma forma uma figura semelhante a um triângulo e a largura da base deste triângulo expressa a variabilidade dos intervalos RR, um índice de VFC pode facilmente ser calculado a partir de regras geométricas simples, levando-se em conta a área e altura do triângulo<sup>(27)</sup>.

Desta forma, a interpolação triangular de intervalos RR corresponde à base do triângulo, podendo ser calculada dividindo-se a área correspondente ao número total de intervalos RR utilizado para construir a figura e a altura corresponde ao número de intervalos RR com frequência modal do triângulo  $(A/h)^{(1,3)}$ .

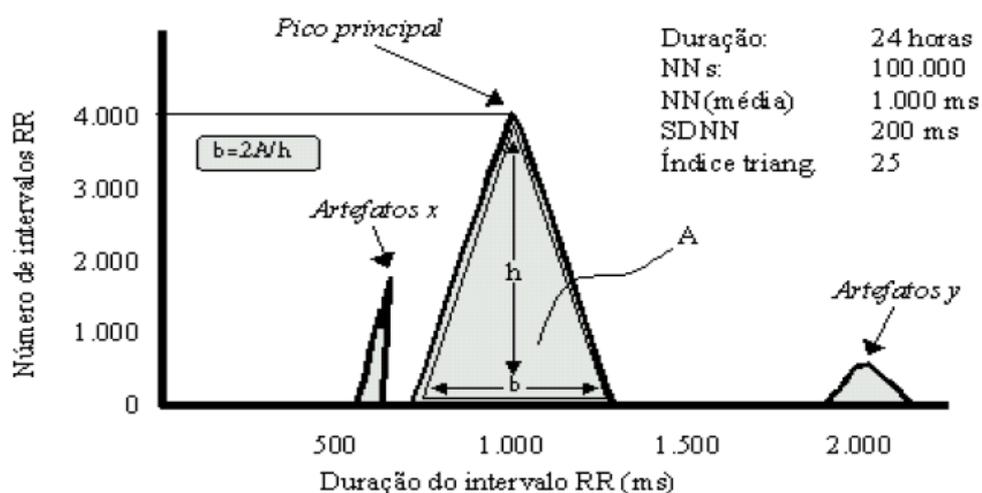


Fig. 2 Exemplo de histograma do intervalo RR (RASSI Jr<sup>(27)</sup>).

O índice triangular tem uma íntima correlação com o desvio padrão de todos os intervalos RR (SDNN), apresentando certa vantagem sobre este, pois, como pode ser observado na Figura 2, os intervalos RR medidos de maneira

incorreta (geralmente artefatos e batimentos ectópicos computados como normais), e que alteram o cálculo estatístico, ficam fora do triângulo não interferindo na construção do formato triangular<sup>(3)</sup>.

Apesar de sua utilidade, o índice triangular não é muito usado, pois, para o *Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology* 1996<sup>(1)</sup>, sua maior desvantagem é a necessidade de um número razoável de intervalos RR para construir um padrão geométrico. Na prática, gravações de pelo menos 20 minutos (preferencialmente 24h) poderiam ser usadas para compor uma representação geométrica adequada, ou seja, índices geométricos não são recomendados para análise de VFC com registro de curto prazo.

Outro método geométrico para análise da dinâmica da VFC é a plotagem de *Lorenz (plot de Poincaré)*, que consiste na representação de uma série temporal dentro de um plano cartesiano no qual cada intervalo RR, sendo representado no eixo horizontal X (abscissa), pelo intervalo RR normal precedente e, no eixo vertical Y (ordenada), pelo intervalo RR seguinte<sup>(28-30)</sup>, conforme Figura 3.

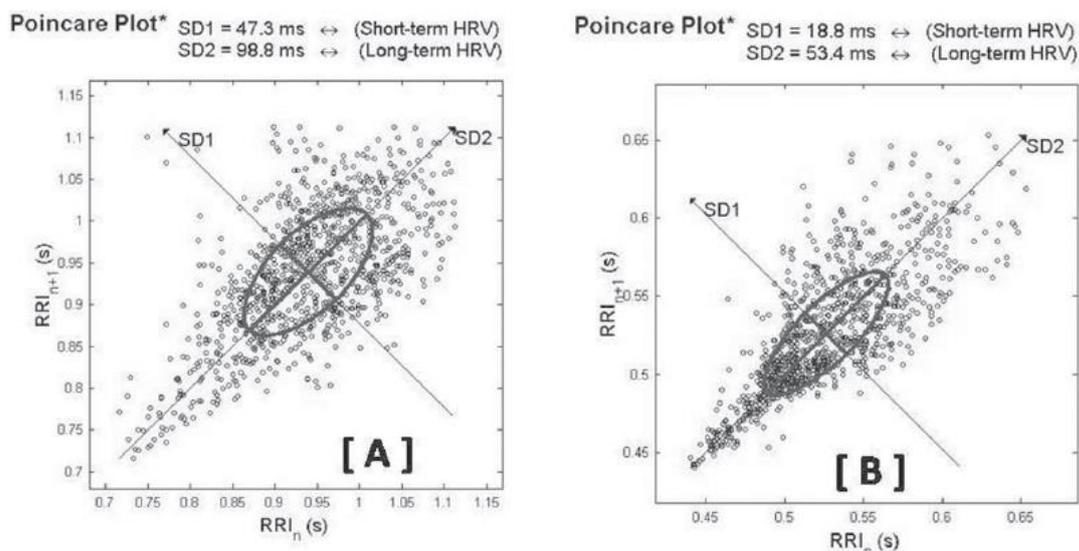


Fig. 3 *Poincaré* de um adulto jovem normal (A) e de um recém-nascido normal (B). A dispersão tanto de curto (SD1) quanto de longo prazo (SD2) no painel B está menor do que no painel A (VANDERLEI *et al.*<sup>(5)</sup>).

A plotagem de certo número de intervalos RR gera um padrão geométrico característico. Portanto, a análise do *plot de Poincaré* é uma técnica emergente que pode ser feita de forma qualitativa (visual), por meio da avaliação da figura formada pelo seu atrator, a qual é útil para mostrar o grau de complexidade dos intervalos RR, ou quantitativa, por meio do ajuste da elipse da figura formada pelo atrator onde se obtém três índices: SD1, SD2 e a razão SD1/SD2<sup>(31,3)</sup>.

Dentro desse contexto, o SD1 representa a dispersão dos pontos perpendiculares à linha de identidade e parece ser um índice de registro instantâneo da variabilidade batimento a batimento; o SD2 representa a dispersão dos pontos ao longo da linha de identidade e representa a VFC em registros de longa duração; a relação de ambos (SD1/SD2) mostra a razão entre as variações curta e longa dos intervalos RR<sup>(31,12)</sup>. Entretanto, para Kamakar *et al.*<sup>(31)</sup>, a falta de informação temporal é a principal limitação dos

descritores padrões do *plot de Poincaré*, como é o caso do SD1 e SD2 que representam a distribuição de sinal no espaço transportando apenas informações espaciais (formas).

A representação por formas geométricas permitem apenas interpretações globais da VFC, sendo que os outros níveis de variação temporal de qualquer sistema dinâmico permanecem ocultos<sup>(31)</sup>. Portanto, para refletir variações temporais com maior precisão, foi desenvolvido um descritor capaz de incorporar informações de correlação múltipla de *log*, denominada: Medida de Correlação Complexa (CCM), esta ferramenta que é descrita em um recente estudo de Kamakar *et al.*<sup>(31)</sup>, é capaz de medir as variações temporais ponto a ponto do sinal em vez da VFC bruta. Neste mesmo estudo, foi demonstrado que a CCM é mais sensível as variações temporais do sinal.

A análise visual do *plot de Poincaré* é descrita por Tullpo *et al.*<sup>(32)</sup>, e no que se refere à forma das figuras, existem três pontos importantes que devem ser considerados: (1) figura com característica de um cometa, na qual um aumento na dispersão dos intervalos batimento a batimento é observado com aumento nos intervalos RR, característica de um plot normal; (2) figura com característica de um torpedo, com pequena dispersão global batimento a batimento (SD1) e sem aumento da dispersão dos intervalos RR em longo prazo; (3) figura complexa ou parabólica, na qual duas ou mais extremidades distintas são separadas do corpo principal do *plot*, com pelo menos três pontos incluídos em cada extremidade.

Muitos dos índices citados são usados pela maioria dos pesquisadores na avaliação da função autonômica, utilizando a VFC como ferramenta, entretanto, Gamelin *et al.*<sup>(33)</sup> relatam que somente o SDNN e o RMSSD são

recomendados pelo Task Force<sup>(1)</sup>, isso ocorre devido às melhores propriedades estatísticas desses dois índices em relação aos outros.

Outra opção de método linear são as medidas no domínio da frequência. Tais medidas, derivam da análise do espectro de potência que apresenta a distribuição da densidade em função da frequência<sup>(1,34,3)</sup>. O propósito da análise espectral é decompor a VFC em seus componentes de frequência específica, definindo assim a variância que é freqüentemente referida como potência, sendo medida de forma absoluta ( $ms^2$ ) ou em unidades normalizadas (nu) contidas em cada componente de frequência que podem ser expressos em valores relativos à potência total subtraindo-se o componente de muito baixa frequência<sup>(1,21,35)</sup>. Análises no domínio da frequência podem ser vistas nas Figuras 4 e 5.

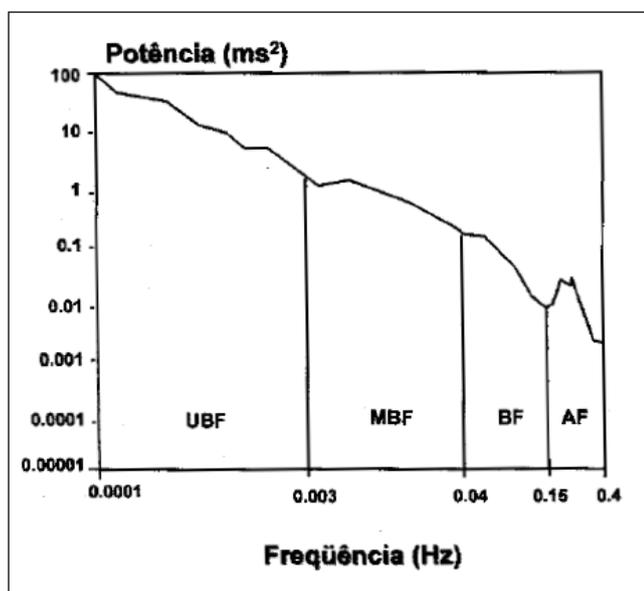


Fig. 4 Gráfico representativo das quatro faixas principais que compõe a potência total de uma análise espectral obtida de *Holter* 24h. Observar que as faixas ULF e VLF (significado fisiológico ainda não determinado) são proporcionalmente maiores que as de LF e HF (utilizadas usualmente na maioria dos trabalhos) adaptado de Task Force<sup>(1)</sup>.

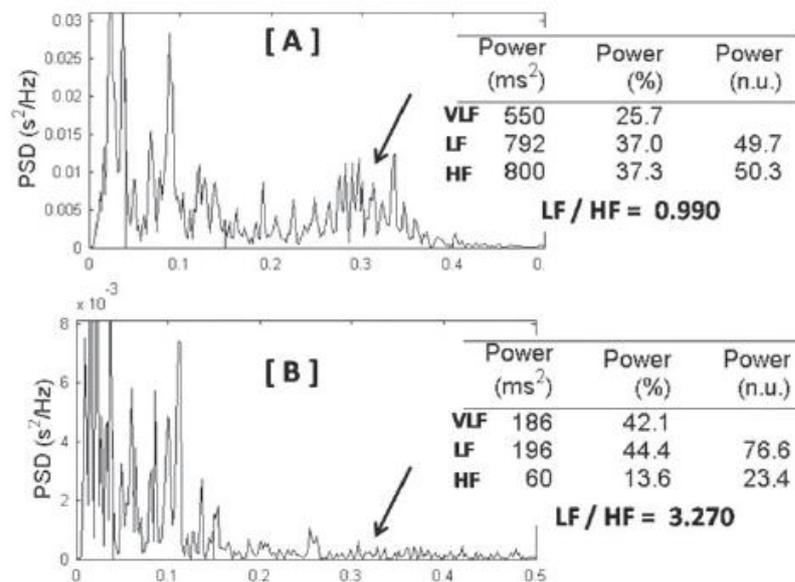


Fig. 5 Análise espectral de frequências (*Fast Fourier Transform*) de um adulto jovem normal (A) e de um recém-nascido normal (B). O componente de alta frequência (HF) está proporcionalmente bem mais reduzido no recém-nascido (setas) assim como a potência total (VANDERLEI *et al.*<sup>(5)</sup>).

Para calcular os índices espectrais, um tacograma de frequência passa por processamento matemático. Este tacograma, contém um sinal aparentemente periódico que oscila no tempo e que é processado por algoritmos como a transformação rápida de *Fourier* ou modelo auto-regressivo<sup>(1,3,5)</sup>. Ambos os métodos delimitam três faixas de frequências distintas: 1) Componente de alta frequência (*High Frequency* - HF), com variação de 0,15 a 0,4Hz, que corresponde à modulação respiratória e é um indicador da atuação do nervo vago sobre o coração; 2) Componente de baixa frequência (*Low Frequency* - LF), com variação entre 0,04 e 0,15Hz, que é decorrente da ação conjunta dos componentes vagal e simpático sobre o coração, com predominância do simpático; 3) Componentes de muito baixa

frequência (*Very Low Frequency* - VLF) e ultra baixa frequência (*Ultra Low Frequency* - ULF) - Índices menos utilizados cuja explicação fisiológica não está bem estabelecida, mas parece estar relacionada ao sistema renina-angiotensina-aldosterona, à termorregulação e ao tônus vasomotor periférico<sup>(37,1,2,36)</sup>.

Outro parâmetro bastante utilizado é a relação entre os componentes de baixa frequência (LF) e alta frequência (HF) usualmente definido como razão LF/HF<sup>(1)</sup>. Este parâmetro reflete as alterações absolutas e relativas entre os componentes simpático e parassimpático do SNA, caracterizando assim o balanço simpato-vagal sobre o coração<sup>(1,38)</sup>.

A definição do componente HF como de alta frequência e do LF como de baixa frequência deve-se ao fato do nervo vago e o sistema simpático enviarem, respectivamente, uma maior ou menor frequência de impulsos sobre o nodo sinusal<sup>(39)</sup>. Ou seja, a liberação de acetilcolina pelos terminais parassimpáticos exerce sua influência sobre a despolarização do nodo sinoatrial, a acetilcolina apresenta velocidade de remoção muito rápida (alta frequência), provocando oscilações na duração dos intervalos RR, levando a variações rítmicas na FC. Inversamente, a noradrenalina por sua vez é liberada pelos terminais simpáticos e possui uma velocidade de remoção lenta (baixa frequência) acarretando variações na FC<sup>(9)</sup>.

### **Métodos não-lineares**

A maioria dos métodos atuais para análise de dados baseia-se em modelos lineares que levam em consideração proporcionalidades entre duas ou mais variáveis, nas quais essas relações são descritas por equações

lineares<sup>(22)</sup>. Por outro lado, os métodos no domínio do tempo e espectrais apresentam limitações, principalmente em relação a possíveis não-estacionariedade dos seus sinais<sup>(35,23,40)</sup>.

Nesse sentido, ao contrário do que se pensava no passado, sistemas simples nem sempre produzem comportamentos igualmente simples. O fruto desta nova realidade científica é a Teoria do Caos que se estende aos mais diversos campos do conhecimento científico, como a medicina e a biologia<sup>(3)</sup>. A teoria do Caos descreve elementos manifestando comportamentos que são extremamente sensíveis às condições iniciais, dificilmente se repetem, mas apesar de tudo são determinísticos<sup>(22)</sup>. Desta forma, a constituição da VFC é determinada por interações complexas entre variáveis eletrofisiológicas, que além da regulação do sistema nervoso autônomo envolve fatores humorais e hemodinâmicos, e todo esse processo resulta em um fenômeno não-linear<sup>(40)</sup>.

O comportamento não-linear é predominante nos sistemas humanos, em razão de sua natureza dinâmica complexa que não pode ser descrita adequadamente por métodos lineares, tal fato, leva alguns pesquisadores a concluir que a abordagem não-linear determinística é mais apropriada para descrever fenômenos mais complexos<sup>(41,23,42,22)</sup>. Esse pensamento focado na não-linearidade vem crescendo entre os fisiologistas desde meados do século passado e as teorias dos sistemas não-lineares têm sido progressivamente aplicadas para interpretar, explicar e prever o comportamento dos fenômenos biológicos<sup>(22)</sup>.

Dentre os parâmetros mais utilizados pelos métodos não-lineares para análise da VFC, podemos destacar: a dimensão de correlação (CD); análise destendenciada da flutuação (DFA) que avalia a propriedade fractal de curto e

médio prazos dos intervalos RR, obtendo-se os índices  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ ; expoente de Hurst (HE); dimensão fractal (FD); entropia aproximada (ApEn) e o expoente de Lyapunov<sup>(43,3)</sup>.

Estes métodos diferem dos índices tradicionais de estimativa da VFC basicamente por que não se destinam a avaliar a magnitude da variável, mas sim, características do comportamento dinâmico da frequência cardíaca que não podem ser verificadas por métodos baseados em estatística<sup>(23,41,43)</sup>.

### **Aplicabilidade**

Independente do método de análise ser linear ou não-linear, a VFC vem se consolidado como uma importante ferramenta de avaliação do SNA, com propostas de utilização bastante diversificadas, tais como: fobia social<sup>(44)</sup>, doença arterial coronariana<sup>(45-48)</sup>, função cognitiva<sup>(49)</sup>, diabetes<sup>(50)</sup>, acidente vascular cerebral<sup>(51)</sup>, epilepsia<sup>(52)</sup>, enxaqueca<sup>(53)</sup>, depressão<sup>(57)</sup> e em medicina do esporte, para avaliar as adaptações ao treinamento físico<sup>(54-56)</sup>.

Apesar das diversas formas de utilização da VFC citadas, novas possibilidades de uso vêm surgindo, como proposto por Critchley *et al.*<sup>(58)</sup> e Lane *et al.*<sup>(59)</sup> que, cruzando informações de neuroimagem com parâmetros da VFC, buscaram avaliar a atividade de regiões cerebrais que possam estar associadas ao controle autonômico durante execução desempenho cognitivo e tarefa motora. Na mesma direção, Napadow *et al.*<sup>(60)</sup> tentaram explorar melhor a rede autonômica central, através de um estudo que incluiu imagens cerebrais de estruturas envolvidas no controle cardiovascular, associadas aos parâmetros de VFC, durante a tarefa de pressão manual.

Em estudo recente, Vandermeeren *et al.*<sup>(61)</sup> traz outra proposta de investigação muito interessante que propõe avaliar o efeito da estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) sobre a função autonômica usando a VFC como ferramenta capaz de detectar alterações no SNA. Sob a mesma óptica Yoshida *et al.*<sup>(62)</sup> utilizaram a estimulação magnética transcraniana e evidenciaram aumento na atividade simpática através do monitoramento da VFC, verificado por elevação transiente do LF. O grande mérito desses estudos é que tanto a técnica de intervenção (ETCC) quanto à de avaliação (VFC) podem ser feitas de forma barata, simples e não-invasiva.

Cabe ressaltar, que apesar de seu vasto campo de utilização a VFC apresenta algumas limitações, como no caso dos transplantes cardíacos, presença de arritmias e marca-passos, estes fenômenos produzem intervalos RR anormais e inadequados para uma avaliação confiável do SNA, limitando o uso dessa ferramenta nessas condições<sup>(5)</sup>.

## **CONCLUSÃO**

Devido a sua ampla possibilidade de uso, fácil execução e boa reprodutibilidade, a análise da VFC têm se tornado uma importante ferramenta para investigar a integridade e a capacidade adaptativa do SNA às mais diversas condições, de doenças ou não. Desta forma, novos estudos com propostas de utilizações diversificadas, como no caso da associação da VFC a área de neurociência devem ser encorajados, entretanto, a interpretação fisiológica dos dados precisa ser conduzida com bastante rigor.

## REFERÊNCIAS

1. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996; 93:1043-65.
2. Rajendra AU, Paul JK, Kannathal N, Lim CM, Suri JS. Heart rate variability: a review. *Med Bio Eng Comput*. 2006;44:1031-51.
3. Wheat AL, Larkin KT. Biofeedback of heart rate variability and related physiology: a critical review. *Appl Psychophysiol Biofeedback*. 2010;35:229-42.
4. Vanderlei LCM, Pastre CM, Hoshi RA, Carvalho TD, Godoy MF. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2009; 24: 205-217.
5. Akselrod S, Gordon D, Ubel FA, Shannon DC, Barger AC, Cohen RJ. Power Spectrum Analysis of Heart Rate Fluctuation: A Quantitative Probe of Beat-to-Beat Cardiovascular Control. *Science, News Series*, 1981;213:220-2.
6. Kleiger RE, Bosner MS, Rottman JN, Stein PK - Time-domain measurements of heart rate variability. *J Ambul Monitoring* 1993;6:1-18.
7. Almeida MB, Araújo CGS. Efeitos do treinamento aeróbio sobre a frequência cardíaca. *Rev Bras Med Esporte*. 2003; 9:104-2.
8. Cambri LT, Fronchetti L, Oliveira FR, Gevaerd MS. Variabilidade da frequência cardíaca e controle metabólico. *Arq Sanny Pesq Saúde* 2008,1:72-82.
9. Aubert AE, Seps B, Beckers F. Heart rate variability in athletes. *Sports Med*. 2003;33:889-919.

10. Radespiel-Tröger M, Rauh R, Mahlke C, Gottschalk T, Muck-Weymann M. Agreement of two different methods for measurement of heart rate variability. *Clin Auton Res.* 2003;13:99-102.
11. Gamelin FX, Berthoin S, Bosquet L. Validity of the polar S810 heart rate monitor to measure RR intervals at rest. *Med Sci Sport Exerc.* 2006;38:887-93.
12. Achten J, Jeukendrup AE. Heart rate monitoring: applications and limitations. *Sports Med.* 2003;33:518-38.
13. Nunan D, Jakovljevic DG, Donovan G, Hodges LD, Sandercock GRH, Brodie D A. Levels of agreement for RR intervals and short-term heart rate variability obtained from the Polar S810 and an alternative system. *Eur J Appl Physiol.* 2008;103:529-37.
14. Kingsley M, Lewis MJ, Marson RE. Comparison of polar 810s and an ambulatory ECG system for RR interval measurement during progressive exercise. *Int J Sports Med.* 2005;26:39-44.
15. Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Bosquet L. Validity of the polar S810 to measure R-R intervals in children. *Int J Sports Med* 2008; 29:134-8.
16. Vanderlei LCM, Silva RA, Pastre CM, Azevedo FM, Godoy MF. Comparison of the Polar S810i monitor and the ECG for the analysis of heart rate variability in the time and frequency domains. *Braz J Med Biol Res* 2008;41:854-9.
17. Nunan D, Donovan G, Jakovljevic DG, Hodges LD, Sanderock GRH, Brodie DA. Validity and Reliability of Short-Term Heart-Rate Variability from the Polar S810. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2009;41:243-50.
18. Seiler S, Haugen O, Kuffel E. Autonomic recovery after exercise in trained athletes: intensity and duration effects. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39:1366-73.
19. Logier R, De Jonckheere J, Dassonneville A. An efficient algorithm for R-R intervals series filtering. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2004;6:3937-40.

20. Berntson GG, Bigger JT, Eckberg DL, Grossman P, Kaufmann PG, Malik M, et al. Heart Rate Variability: origins, methods, and interpretive caveats. *Psychophysiology*. 1997;34:623-48.
21. Godoy MF, Takakura IT, Correa PR. Relevância da análise do comportamento dinâmico não-linear (Teoria do Caos) como elemento prognóstico de morbidade e mortalidade em pacientes submetidos à cirurgia de revascularização miocárdica. *Arq Ciênc Saúde*. 2005;12:167-71.
22. Mäkikallio TH, Huikuri HV, Hintze U, Videbaek J, Mitrani RD, Astellanos A, Myerburg RJ, Moller M. "Fractal analysis and time- and frequencydomain measures of heart rate variability as predictors of mortality in patients with heart failure", *The American Journal of Cardiology*. 2001;87:178-182.
23. Malik M. Heart rate variability. *Current Opinion in Cardiology* 1998; 13:36-44.
24. Niskanen JP, Tarvainen MP, Ranta-Aho PO, Karjalainen PA. Software for advanced HRV analysis. *Comput Methods Programs Biomed*. 2004;76:73-81.
25. Pumpura J, Howorka K, Groves D, Chester M, Nolan J. Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. *Int J Cardiol*. 2002;84:1-14.
26. Rassi Jr.A. Compreendendo melhor as medidas de análise da variabilidade da frequência cardíaca. *J Diag Cardiol*. 8 ed., 2000. [Citado 2005 fev 25]. Disponível em: [www.cardios.com.br/jornal-01/tese%20completa.htm](http://www.cardios.com.br/jornal-01/tese%20completa.htm).
27. Penttilä J, Helminen A, Jartti T, Kuusela T, Huikuri HV, Tulppo MP, et al. Time domain, geometrical and frequency domain analysis of cardiac vagal outflow: effects of various respiratory patterns. *Clin Physiol*. 2001;21:365-76.
28. Lerma C, Infante O, Pérez-Grovas H, José MV. Poincaré plot indexes of heart rate variability capture dynamic adaptations after haemodialysis in chronic renal failure patients. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2003;23:72-80.

29. Smith AL, Reynolds KJ, Owen H. Correlated Poincaré indices for measuring heart rate variability. *Australas Phys Eng Sci Med.* 2007;30:336-41.
30. Tulppo MP, Makikallio TH, Takala TES, Seppanen T, Huikuri HV. Quantitative beat-to-beat analysis of heart rate dynamics during exercise. *Am. J. Physiol.* 271 (Heart Circ. Physiol. 40) 1996;244–52.
31. Karmakar CK, Khandoker AH, Gubbi J, Palaniswami M. Complex Correlation Measure: a novel descriptor for Poincaré plot. *BioMedical Engineering OnLine.* 2009;8:17.
32. Tulppo MP, Makikallio TH, Seppanen T, Laukkanen RT, Huikuri HV. Vagal modulation of heart rate during exercise: effects of age and physical fitness. *Am. J. Physiol.* 274 (Heart Circ. Physiol. 43) 1998;424–9.
33. Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Bosquet L. Validity of the polar S810 to measure R-R intervals in children. *Int J Sports Med.* 2008; 29:134-8.
34. Mansier P, Clairambault J, Charlotte N, Médigue C, Vermeiren C, LePape G, Carré F, Gounaropoulou A, Swynghedauw B. “Linear and non-linear analyses of heart rate variability: a minireview”, *Cardiovasc Res.* 1996;31:371-9.
35. Zaza A, Lombardi F. Autonomic indexes based on the analysis of heart rate variability: a view from the sinus node. *Cardiovasc Res.* 2001;50:434–42.
36. van Ravenswaaij-Arts CMA, Kollee LAA, Hopman JCW, Stoeltinga GBA, van Geijn HP, Heart Rate Variability. *Ann Intern Med.* 1993;118:436-47.
37. Bosquet L, Merkari S, Arvisais D, Aubert AE. Is heart rate a convenient tool to monitor overreaching: A systematic review of the literature. *Br J Sports Med.* 2008;42:709–14.
38. Yamamoto Y, Hughson R, Peterson JC. Autonomic control of heart rate during exercise studied by heart rate variability spectral analysis. *J Appl Physiol.* 1991;71: 1136-42.

39. Oliveira DJ, Gomes MED, Guimarães HN, Aguirre LA. Síntese de sinais de variabilidade da frequência cardíaca baseada em modelagem não-linear. *Rev. Bras. Eng. Bioméd.* 2006;22:51-62.
40. Huikuri HV, Makikallio T, Airaksinen KE, Mitrani R, Castellanos A, Myerburg RJ. Measurement of heart rate variability: a clinical tool or a research toy? *J Am Coll Cardiol.* 1999; 34:1878–83.
41. Huikuri HV, Makikallio TH, Raatikainen MJ, Perkiomaki J, Castellanos A, Myerburg RJ. Prediction of sudden cardiac death: appraisal of the studies and methods assessing the risk of sudden arrhythmic death. *Circulation* 2003;108:110–15.
42. Huikuri HV, Mäkikallio TH, Peng CK, Goldberger AL, Hintze U, Moller M. Fractal correlation properties of R-R interval dynamics and mortality in patients with depressed left ventricular function after an acute myocardial infarction. *Circulation.* 2000;101:47-53.
43. Åhs F, Sollers JJ, Furmark T, Fredrikson M, Thayer JF. High-frequency heart rate variability and cortico-striatal activity in men and women with social phobia. *NeuroImage.* 2009; 47:815–20.
44. Karas M, Laroche P, LeBlanc RA, Dubé B, Nadeau R, Champlain J. Attenuation of autonomic nervous system functions in hypertensive patients at rest and during orthostatic stimulation. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2008;10:97-104.
45. Carney RM, Freedland KE, Stein PK, Miller GE, Steinmeyer B, Rich MW, et al. Heart rate variability and markers of inflammation and coagulation in depressed patients with coronary heart disease. *J Psychosom Res.* 2007;62:463-7.
46. Takahashi ACM, Novais LD, Silva E, Sakabe DI, Oliveira L, Milan LA, et al. Avaliação do controle autonômico da frequência cardíaca e determinação do limiar de anaerobiose em homens saudáveis e coronariopatas. *Rev Bras Fisioter.* 2005;9:157-64.
47. Carnethon MR, Liao D, Evans GW, Cascio WE, Chambless LE, Heiss G. Correlates of the shift in heart rate variability with an active postural change in a health population sample: The Atherosclerosis Risk In Communities study. *Am Heart J.* 2002;143:808-13.

48. Luft CDB, Takase E, Darby D. Heart rate variability and cognitive function: Effects of physical effort. *Biological Psychology*. 2009;82:186–191.
49. Kudaiberdieva G, Görennek B, Timuralp B. Heart rate variability as a predictor of sudden cardiac death. *Anadolu Kardiyol Derg*. 2007;7:68-70.
50. Javorka M, Trunkvalterova Z, Tonhajzerova I, Javorkova J, Javorka K, Baumert M. Short-term heart rate complexity is reduced in patients with type 1 diabetes mellitus. *Clin Neurophysiol*. 2008;119:1071-81.
51. Lakusic N, Mahovic D, Babic T. Gradual recovery of impaired cardiac autonomic balance within first six months after ischemic cerebral stroke. *Acta Neurol Belg*. 2005;105:39-42.
52. El-Sayed HL, Kotby AA, Tomoum HY, El-Hadidi ES, El Behery SE, El-Ganzory AM. Non-invasive assessment of cardioregulatory autonomic functions in children with epilepsy. *Acta Neurol Scand*. 2007;115:377-84.
53. Hautala AJ, Kiviniemi AM, Tulppo MP. Individual responses to aerobic exercise: The role of the autonomic nervous system. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 2009; 33:107–15.
54. Tulppo MP, Hautala AJ, Mäkikallio TH, Laukkanen RT, Nissilä S, Hughson RL, et al. Effects of aerobic training on heart rate dynamics in sedentary subjects. *J Appl Physiol*. 2003;95:364-72.
55. Kiviniemi AM, Hautala AJ, Kinnunen H, Tulppo MP. Endurance training guided individually by daily heart rate variability measurements. *Eur J Appl Physiol*. 2007; 101:743–51.
56. Bosquet L, Gamelin FX, Berthoin S. Is aerobic endurance a determinant of cardiac autonomic regulation? *Eur J Appl Physiol*. 2007;100:363-9.
57. Kemp AH, Quintana DS, Gray MA, Felmingham KL, Brown K, Gatt JM. Impact of Depression and Antidepressant Treatment on Heart Rate Variability: A Review and Meta-Analysis. *Biol Psychiatry*. 2010;67:1067–74.

58. Critchley H, Mathias C, Josephs O, O'Doherty J, Zanini S, Dewar B, Cipolotti L, Shallice T, Dolan R. Human cingulate cortex and autonomic control: converging neuroimaging and clinical evidence. *Brain*. 2003;126: 2139–52.
59. Lane RD, McRae K, Reiman EM, Chen K, Ahern GL, Thayer JF. Neural correlates of heart rate variability during emotion. *NeuroImage*. 2009;44: 213–22.
60. Napadow V, Dhond R, Conti G, Makris N, Brown EN, Barbieric R. Brain correlates of autonomic modulation: Combining heart rate variability with fMRI. *NeuroImage*. 2008;42:169–77.
61. Vandermeeren Y, Jamart J, Ossemann M. Effect of tDCS with an extracephalic reference electrode on cardio-respiratory and autonomic functions. *BMC Neuroscience*. 2010;11:38.
62. Yoshida T, Yoshino A, Kobayashia Y, Inouea M, Kamakurab K, Nomura S. Effects of slow repetitive transcranial magnetic stimulation on heart rate variability according to power spectrum analysis. *Journal of the Neurological Sciences*. 2001;184:77 –80.

**2º artigo: artigo original**

GOMES LPS; GERALDES AAR; OKANO AH. **Efeito da estimulação transcraniana por corrente contínua sobre a variabilidade da frequência cardíaca de mulheres hipertensas.**

## RESUMO

**Introdução:** A estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) supostamente é capaz de modular as atividades neurais de áreas corticais autonômicas como o córtex insular (CI), podendo assim influenciar as respostas fisiológicas da variabilidade da frequência cardíaca (VFC). Desta forma, esse estudo se propôs a analisar o efeito da ETCC aplicada no lobo temporal esquerdo (área que possui ligações aferentes com o CI), sobre a VFC de mulheres com hipertensão arterial sistêmica (HAS). **Métodos:** A amostra, composta por 10 mulheres com HAS ( $45,60 \pm 11,04$  anos;  $1,64 \pm 0,1$  m e  $75,90 \pm 13,83$  kg), foi submetida a uma sessão de ETCC anódica, catódica e simulada, separadamente, com duração de 20 minutos e intensidade de 2mA, sobre a região T3 no lado esquerdo (padrão EEG Sistema 10-20). Para verificar as alterações na VFC foram avaliados três intervalos do registro contínuo: 1) 10 min na condição basal; 2) 20 min durante a aplicação da ETCC; e 3) durante 15 min, após o término da ETCC. A atividade autonômica foi avaliada utilizando-se os (iRR) médios e o RMSSD, ambos em ms, também foi utilizada razão LF/HF. **Resultados:** Foram verificadas diferenças significantes somente para a estimulação catódica, onde os valores de iRR durante e após a ETCC foram maiores em relação ao iRR da condição basal. Os valores de RMSSD também aumentaram, no entanto, evidenciou-se aumento dos valores apenas na condição pós/ETCC quando comparada com a basal. **Conclusão:** A aplicação da ETCC anódica sobre a região do lobo temporal esquerdo (T3) em mulheres com HAS, não aumentou a VFC. Por outro lado, a ETCC catódica foi capaz de aumentar a VFC.

**Palavras-chave:** estimulação cerebral, regulação autonômica, hipertensão arterial.

## ABSTRACT

**Introduction:** Transcranial direct current stimulation (tDCS) is supposedly capable of modulating the neural activities of autonomic cortical areas such as insular cortex (IC) and may thus influence the physiological responses of heart rate variability (HRV). Thus, this study was to analyze the effect of tDCS applied to the left temporal lobe (the area that has afferent connections with the IC) on HRV in women with systemic arterial hypertension (HTN). **Methods:** The sample comprised 10 women with hypertension ( $45.60 \pm 11.04$  years,  $1.64 \pm 0.1$  m  $75.90 \pm 13.83$  kg), underwent one session of anodal tDCS, and cathodic simulated separately, with 20 minutes duration and intensity of 2mA on the T3 area on the left side (standard EEG 10-20 system). To verify changes in HRV were assessed three intervals of continuous registration: 1) 10 min at baseline, 2) 20 min during the application of tDCS, and 3) for 15 min after the end of tDCS. The autonomic activity was assessed using the (iRR) and the average RMSSD, both in ms, was also used LF/HF ratio. **Results:** We found significant differences only for cathodic stimulation, where the values of iRR during and after tDCS were higher compared to the baseline iRR. RMSSD values also increased, however, showed an increase of the values only in the post/ETCC when compared with baseline. **Conclusion:** The application of anodal tDCS over the left temporal lobe region (T3) in women with hypertension did not increase HRV. On the other hand, the cathodic ETCC was able to increase HRV.

**Keywords:** brain stimulation, autonomic regulation, arterial hypertension.

## Introdução

Crescem as evidências demonstrando que a hiperatividade do sistema nervoso simpático relaciona-se com a hipertensão arterial sistêmica (HAS)<sup>1,2</sup>, podendo ser detectada, muitos anos antes que a elevação dos níveis da pressão arterial (PA) atinja valores considerados hipertensivos, sugerindo que a ativação simpática é um evento primário e não uma mera consequência da HAS<sup>2</sup>. Além disso, futuramente, a HAS poderá ser a grande causa de incapacidade e morte até o ano de 2020<sup>3</sup>, o que sugere atenção especial no tratamento e prevenção desta doença.

Em estudos realizados com modelos animais, demonstraram que a estimulação elétrica direta de diferentes estruturas do tronco encefálico e córtex cerebral, podem alterar, significativamente a FC<sup>4,5</sup>. Sendo assim, tem sido crescente o número de evidências demonstrando as relações existentes entre as regiões corticais e uma série de estruturas que podem ser responsáveis pela regulação autonômica, como por exemplo: córtex sensoriomotor (CSM), córtex pré-frontal medial (CPFM) e o córtex insular (CI)<sup>6</sup>. Com relação a este último, Oppenheimer *et al.*<sup>7</sup>, através de estimulação elétrica direta no CI direito de humanos, verificaram uma maior resposta cardiovascular simpática com aumento da FC. Por outro lado, a estimulação do CI esquerdo promoveu uma maior atividade parassimpática, verificada pela redução da FC sugerindo uma divisão de tarefas entre os lobos temporais.

Portanto, apoiando-se nesta relação, e no fato de que os resultados de estudos anteriores sugerirem que a estimulação cerebral profunda<sup>8</sup> pode modular a função autonômica surgiu à hipótese de que a estimulação cerebral não-invasiva, também poderia ser utilizada como estratégia para alcançar tais

efeitos, além do fato, de ser mais barata e menos invasiva, quando comparada com outras técnicas<sup>6,9,10</sup>. O exposto, explica o crescente uso da estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) em pesquisas recentes. A ETCC é uma técnica neuromodulatória que utiliza uma clássica montagem bi-cefálica, caracterizada pela colocação de um par de elétrodos colocado sobre o córtex (anodo e catodo), esperando-se que o estímulo da corrente anódica aumente a excitabilidade cortical e o estímulo da catódica produza efeito contrário<sup>11</sup>. Se o estímulo for acima de 3 minutos os efeitos persistem por uma hora, mesmo após cessar a descarga elétrica<sup>11,12</sup>.

Portanto, diante da possibilidade de que técnicas não-invasivas de estimulação do cérebro possam modular o fluxo simpático, influenciando a atividade neural de áreas corticais autonômicas, como o CI<sup>6,10</sup>, o presente estudo se propôs a testar a hipótese de que a ETCC, aplicada no lobo temporal esquerdo, possa coativar o CI e aumentar a atividade parassimpática de mulheres hipertensas.

## **Material e Métodos**

### **Sujeitos**

Participaram da amostra dez mulheres adultas ( $45,60 \pm 11,04$  anos;  $1,64 \pm 0,1$  m e  $75,90 \pm 13,83$  kg), selecionadas de maneira não probabilística e objetiva, dentre as 118 hipertensas que eram assistidas pelo programa saúde da família (PSF) da cidade de Nossa Senhora do Socorro - SE.

Foram excluídas da amostra as participantes gestantes; aquelas com quaisquer outras doenças, com exceção da HAS; as usuárias de medicamentos que agem na modulação autonômica ou de ação central

(exemplo: ansiolíticos, antidepressivos) e que apresentassem marca-passo ou algum metal intracraniano.

As voluntárias, que faziam uso de medicamentos para controle da PA (por exemplo: captopril e hidroclorotiazida), foram orientadas a permanecer utilizando a medicação, inclusive no dia do experimento, visto que, tais medicamentos não apresentam efeitos sobre a regulação autonômica<sup>15</sup>. Além disso, todos os sujeitos foram instruídos a evitar o consumo de bebidas alcoólicas, cafeína, tabaco e prática de atividade física extenuante, durante as 24h que antecederam a realização dos testes.

Após a explicação dos objetivos, possíveis benefícios e riscos da sua participação no estudo, todas as voluntárias assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, respeitando as normas da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde sobre pesquisa envolvendo seres humanos. Todas as etapas deste estudo foram aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas.

### **Procedimentos para ETCC**

Como recomendado por Nitsche e Paulus<sup>16</sup>, a corrente elétrica foi aplicada através de um par de eletrodos (35 cm<sup>2</sup>) envolvidos por esponjas umedecidas com solução salina. Os eletrodos: ânodo e catodo eram ligados a um estimulador elétrico contínuo, sendo energizados através de três baterias de 9V, colocadas em paralelo. A saída máxima de energia foi de 10mA, sendo controlada por um multímetro digital profissional (EZA EZ 984, China), com um erro padrão de  $\pm 1,5\%$ .

Para a estimulação de polaridade anódica, sobre o córtex insular esquerdo, o ânodo foi colocado sobre o couro cabeludo na área do lobo temporal esquerdo (T3), localizado a 40% de distância à esquerda do vértex (ponto Cz), de acordo com as normas internacionais de EEG 10-20. O cátodo foi colocado sobre a área supraorbital contralateral. Para a polaridade catódica, estas posições foram invertidas.

Após a seleção dos pontos e colocação dos eletrodos, uma corrente elétrica constante de 2mA era aplicada durante 20 min. Para evitar interrupções abruptas na condução da corrente, a intensidade era gradualmente regulada para cima ou para baixo durante os primeiros e os últimos 8-10s de excitação<sup>14,17,18</sup>.

Na condição de simulação (*sham*), os eletrodos foram colocados nas mesmas posições que o ETCC e a corrente era aplicada de 10-30s, de forma que os sujeitos experimentassem as sensações iniciais associadas com o início da estimulação, ou seja: uma leve parestesia<sup>12,17,18</sup>.

Com o objetivo de atenuar a ansiedade, o efeito da novidade e aumentar a validade ecológica do estudo, todos os sujeitos passaram por um processo de familiarização com o método utilizado, realizado da seguinte forma: somente no primeiro dia do monitoramento da VFC propriamente dito, cada voluntária era submetida a 20 segundos de ETCC (1mA)<sup>12</sup>. As participantes permaneceram sem saber qual tipo de estímulo tinham recebido durante as três intervenções.

## Monitoramento VFC

O período de monitoramento consistiu de 50 min., sendo dividido em três intervalos: 1) Basal, com duração de 15 min., 2) aplicação da ETCC, realizada durante 20 min. e, 3) repouso, durante 15 minutos, após a aplicação da ETCC.

O monitoramento foi realizado em um consultório médico, com temperatura constante de 25 °C, onde as voluntárias permaneceram sentadas durante toda a intervenção, tendo sido orientadas a manterem-se relaxadas o máximo possível, sem adormecer. Para evitar interferência da frequência respiratória sobre a VFC, como proposto por Driscoll *et al.*<sup>19</sup>, um metrônomo digital (D'accord®) foi utilizado com intuito de auxiliar na manutenção de um ritmo de 15 ciclos respiratórios por minutos

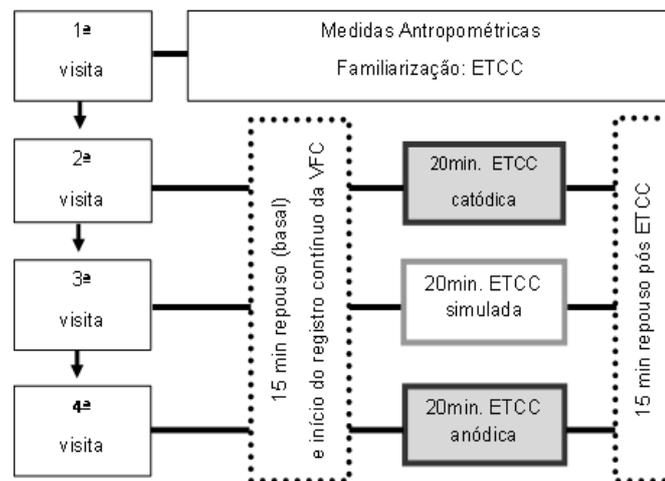
Os intervalos R-R foram continuamente registrados por um cardio-frequencímetro (*Polar RS800, Polar Electro, Kempele, Finlândia*) durante todo o tempo de intervenção, com frequência de amostragem de 1000 Hz. Posteriormente os dados eram analisados no *software* Cardioséries V1.0, após o qual, foi realizada toda a edição dos dados excluindo-se os artefatos contidos nos segmentos dos registros.

## Desenho Experimental

Para avaliação do efeito da ETCC sobre a VFC, foram realizadas três visitas, consecutivas, respeitando-se, pelo menos, 48h de intervalo entre as mesmas. Na primeira visita foram realizadas as medidas antropométricas e, com o objetivo de minimizar erros e/ou incômodos que os indivíduos pudessem vir a sentir durante a estimulação, foi realizado o processo de familiarização dos sujeitos com o aparelho de estimulação elétrica.

As sessões foram randomizadas e as voluntárias permaneciam em repouso, onde se inicia o registro dos 15 min de repouso (basal). Posteriormente, eram submetidas aos procedimentos de estimulação (ETCC anódica, ETCC catódica ou *sham*, cada qual com duração de 20 min. Os intervalos R-R foram continuamente registrados durante todo o protocolo.

A representação esquemática do desenho experimental pode ser observada na figura abaixo (Figura 1).



**Figura 1.** Desenho experimental dos procedimentos adotados durante os quatro dias de visita. O registro da VFC inicia junto com os 15 min. de repouso (basal) e permanece durante todo o protocolo. Em seguida foi aplicada a ETCC anódica/catódica ou simulada (*sham*) durante 20 minutos. Após a ETCC as voluntárias permaneceram mais 15 min. de repouso ainda com registro da VFC.

### Processamento dos dados

As alterações na VFC foram avaliadas em três intervalos: 1) condição basal (últimos 10 min. do registro); 2) ETCC (durante 20 min.) e 3) Pós ETCC, durante 15 min. após o término da ETCC.

A atividade autonômica foi avaliada no domínio do tempo, utilizando-se os seguintes parâmetros: os valores dos intervalos R-R médios em ms (iRR) representando o trabalho simpático ou parassimpático, e a raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre os intervalos R-R normais (RMSSD), também em ms refletindo o trabalho parassimpático. Para o domínio da frequência foi utilizada a razão LF/HF representando o balanço autonômico, onde o componente de baixa frequência (LF) é decorrente da ação conjunta dos componentes vagal e simpático sobre o coração e o de alta frequência (HF) indicada a atuação vagal sobre o coração <sup>20</sup>.

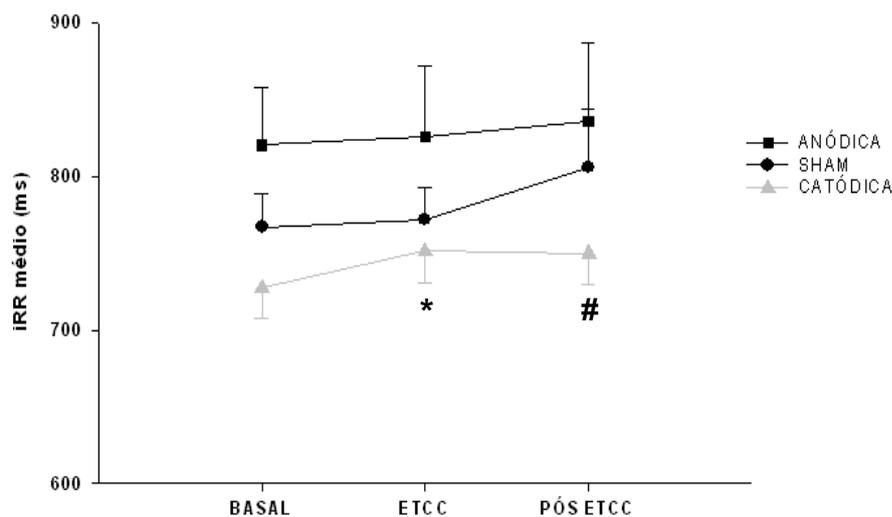
### **Tratamento estatístico**

Os resultados são apresentados através da média  $\pm$  erro padrão. O teste de Shapiro Wilk foi utilizado para avaliação da normalidade e, para a verificação da igualdade das variâncias, utilizou-se o teste de Levene. Como essas condições não foram confirmadas, realizou-se o teste de Friedman, seguido do ANOVA *two-way* por medidas repetidas para comparar as respostas da VFC obtidas nos diferentes intervalos de ETCC anódica, catódica e sham. Quando necessário, o *post hoc* de Bonferroni foi aplicado para a identificação pontual das diferenças entre as variâncias. A significância das análises foi assumida quando  $P < 0,05$ .

### **Resultados**

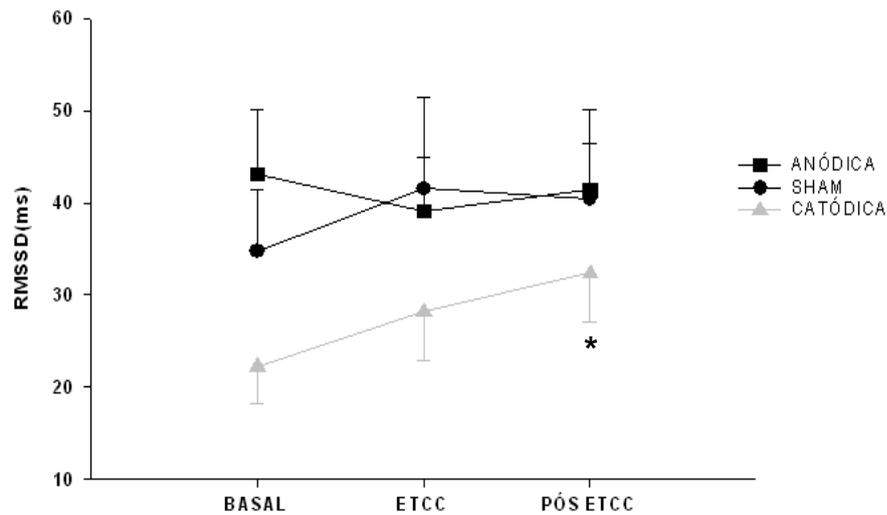
Com exceção de relatos de leve sensação de parestesia na área localizada imediatamente sob o eletrodo, nenhum outro efeito colateral foi relatado pelas participantes.

Os resultados dos iRR médios, obtidos durante a estimulação anódica, não foram significativos ( $P= 0,894$ ), bem como a condição *sham* ( $P= 0,062$ ). Entretanto, na estimulação catódica foram verificadas diferenças entre (iRR) basal VS (iRR) ETCC ( $P= 0,007$ ) e (iRR) basal VS (iRR) pós ETCC ( $P = 0,012$ ) (Figura 2).



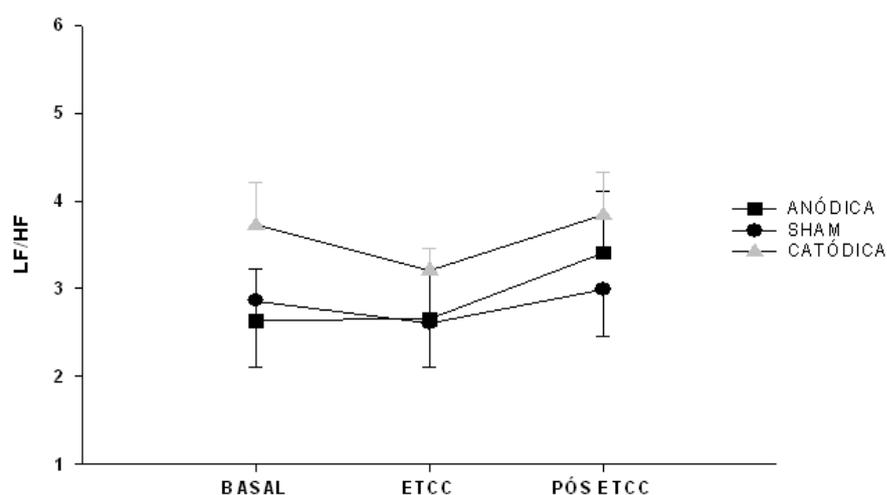
**Figura 2.** Valores do intervalo de pulso nas condições de ETCC anódica, *sham* e catódica. Valores são expressos como média  $\pm$  erro padrão. \*Diferença significativa de (iRR) basal VS (iRR) ETCC ( $P=0,007$ ); # Diferença significativa de (iRR) basal VS (iRR) pós ETCC ( $P=0,012$ ).

Não houve diferença significativa entre o RMSSD basal, ETCC e pós ETCC da estimulação anódica ( $P= 0,263$ ), bem como, na condição *sham* ( $P= 0,670$ ), entretanto, na estimulação catódica, verificou-se diferença significativa nos índices globais de RMSSD ( $P= 0,031$ ). Foi observado diferença apenas entre (RMSSD) Basal x (RMSSD) pós ETCC ( $P=0,012$ ) (Figura 3).



**Figura 3.** Valores de RMSSD nas condições de ETCC anódica, *sham* e catódica. Valores são expressos como média  $\pm$  erro padrão. \*Diferença significativa entre (RMSSD) basal VS (RMSSD) pós ETCC ( $P=0,012$ ).

Os valores de LF/HF, não apresentaram diferenças estatísticas em nenhum dos tipos de estimulação (anódica  $P= 0,459$ ; *sham*  $P= 0,924$  e catódica  $P= 0,367$  respectivamente) (Figuras 4).



**Figura 4.** Valores de LF/HF nas condições de ETCC anódica, *sham* e catódica. Valores são expressos como média  $\pm$  erro padrão.

## Discussão

Como observado pelos parâmetros da VFC, a estimulação anódica não foi capaz de causar nenhum tipo de alteração na atividade autonômica. Por outro lado, verificou-se a elevação da atividade parassimpática com aplicação da estimulação catódica. Tal fato foi evidenciado através do aumento nos valores de RMSSD sendo este um índice da VFC que reflete as oscilações parassimpáticas<sup>20</sup>. Esses resultados são reforçados pela elevação na média dos intervalos de pulso (iRR), indicando que o tempo entre os batimentos cardíacos aumentou, sugerindo uma bradicardia, que pode ter ocorrido por supressão da atividade simpática ou aumento do trabalho parassimpático.

Nossos achados são relevantes à medida que: reforçam a hipótese de que a ETCC possa alcançar as áreas cerebrais relacionadas ao controle autonômico cardiovascular, como sugerido por Cogiamanian *et al.*<sup>6</sup> Desta forma, conseguir acessar o SNA de maneira não invasiva é de grande valia para compreendermos melhor seu funcionamento e otimizar futuras intervenções. Além disso, considerando que a amostra foi composta por mulheres com HAS, e que uma das características dessa patologia é a excessiva atividade simpática<sup>2</sup>, os resultados aqui encontrados tornam-se ainda mais expressivos, visto que, demonstraram o aumento da atividade parassimpática ou redução da simpática. Nesse sentido, os dados sugerem que a ETCC possa auxiliar na restauração do equilíbrio autonômico de mulheres com HAS.

Nesse trabalho, optou-se em usar a ETCC com o eletrodo sobre a região T3, uma área que possui ligações aferentes com o CI (estrutura cortical

envolvida no controle autonômico). Esta, por sua vez, estabelece conexões com outros núcleos subcorticais também envolvidos na regulação autonômica cardiovascular<sup>22,23,24,25,26</sup>. Assim, pode-se especular que a ETCC catódica, aplicada sobre a região T3, tenha sido capaz de coativar o CI e/ou núcleos subcorticais associados a este, influenciando favoravelmente o controle autonômico cardíaco, à medida que houve um aumento da atividade parassimpática e/ou redução da atividade simpática.

Trabalhos investigando o efeito da estimulação cerebral não-invasiva sobre parâmetros fisiológicos são escassos, contudo, alguns estudos têm explorado outras regiões cerebrais com técnicas de estímulo diferentes para influenciar o SNA. Yoshida *et al.*<sup>27</sup> aplicando estimulação magnética transcraniana repetitiva (EMTr) de baixa frequência (0,2Hz) sobre a região central do córtex (Cz) em sujeitos saudáveis, encontrou como resultado um aumento do índice LF, indicando uma elevação transiente da atividade simpática, mostrando que a EMTr também foi capaz de influenciar o SNA. Por outro lado, Vandermeeren *et al.*<sup>10</sup> aplicou ETCC com intensidade de 1mA durante 20 min sobre a linha mediana frontal do córtex (Fz) também em sujeitos saudáveis e não encontrou nenhuma alteração na função autonômica, quando avaliada pela VFC. Em estudo recente, Montenegro *et al.*<sup>21</sup>, utilizando como amostra sujeitos atletas e não atletas, verificaram que a ETCC anódica com intensidade de 1mA e duração de 20 min, aumentou a atividade parassimpática, concomitantemente, reduzindo o fluxo simpático, apenas nos atletas, tais resultados foram evidenciados pelo aumento no índice HF e redução do LF.

Embora os estudos acima tenham utilizado sujeitos saudáveis em suas amostras, diferindo das mulheres com HAS aqui estudadas. O atual trabalho também mostrou que a ETCC foi capaz de influenciar positivamente a modulação autonômica, entretanto, alguns pontos necessitam ser esclarecidos, tais como: a influência da estimulação bipolar sobre o cérebro, a divisão de funções entre os hemisférios cerebrais no controle cardiovascular e o efeito do ânodo e do catodo em áreas, morfologicamente, distintas. Ainda que a montagem bipolar seja a mais utilizada e recomendada, a ETCC pode estimular não só a região pretendida, mas também áreas vizinhas. Além disso, o eletrodo de referência cefálica, considerado “inerte”, também pode modular outras áreas corticais<sup>12</sup>.

Em uma das montagens bipolares, utilizadas nesse trabalho (ETCC catódica), o eletrodo de referência foi o ânodo, que devido a um erro metodológico foi colocado no lobo frontal direito do CPF com o lado que mede 7cm na posição vertical, quando na verdade deveria ter sido colocado na horizontal para garantir que não iria estimular as regiões circunvizinhas. Portanto, o CPF pode ter sido estimulado pelo ânodo e influenciado o SNA devido a suas conexões com a divisão anterior da insula, região que projeta ligações para a amígdala, uma das estruturas mais importantes do controle cardiovascular <sup>28</sup>.

Postula-se que o eletrodo de referência ativou áreas do CPF (incluindo o córtex orbitofrontal e CPFM), potencializando o controle inibitório tônico sobre a amígdala. Sabe-se que o CPF mantém um controle inibitório tônico permanente sobre a amígdala influenciando a FC. Um aumento dessa ação inibitória pode desencadear uma redução da FC e uma elevação da VFC, como reportado por

Thayer *et al.*<sup>28</sup>. No presente trabalho tal possibilidade pode ter sido demonstrada pelo aumento do iRR. Assim, também se pode especular outro mecanismo de ação, onde o eletrodo de referencia aumenta a atividade parassimpática e/ou diminui a simpática (aumento da VFC).

Além disso, Foster *et al.*<sup>29</sup> relataram importantes funções entre os lobos frontais e temporais em relação à atividade autonômica. Segundo o autor, o lobo frontal direito está associado com a inibição da atividade simpática, enquanto que o lobo temporal esquerdo com a excitação da atividade parassimpática. Esta informação corrobora com os resultados encontrados no estudo, reforçando a idéia de que o ânodo posto de forma inadequada no lobo frontal direito potencializa a função inibitória do CPF sobre a amígdala suprimindo a atividade simpática, levando a um aumento da VFC. No entanto, esse efeito cardíaco também pode ter sido causado pelo aumento da atividade parassimpática através do cátodo posto no lobo temporal esquerdo. Alguns estudos recomendam a utilização de um eletrodo de referência extracéfálica para eliminar erros na interpretação dos efeitos da ETCC aplicada de forma bipolar<sup>10,30,31</sup>.

Outro aspecto importante a ser considerado, reside no efeito provocado pelos eletrodos no córtex. Vários estudos demonstram que a área cortical sob o ânodo é mais ativa (excitada), enquanto que o catodo mais inibida<sup>12,14,32,33</sup>. Entretanto, existem evidências de que a região do córtex cerebral sob o ânodo é inibida e não excitada, enquanto que o catodo promove um efeito contrário<sup>34,35</sup>. Portanto, não se pode descartar a hipótese de que o efeito excitatório do catodo, aplicado no lobo temporal esquerdo, levou ao aumento da atividade parassimpática nesse estudo.

## **Conclusão**

A aplicação da ETCC anódica sobre a região do lobo temporal esquerdo (T3) em mulheres com HAS, não aumentou a VFC. Por outro lado, a ETCC catódica foi capaz de aumentar a VFC, influenciando áreas corticais envolvidas no controle nervoso autonômico, aumentando significativamente a atividade parassimpática dos sujeitos. Os mecanismos que levaram a esse efeito ainda permanecem desconhecidos, o que dificulta afirmar se essas alterações autonômicas foram devido ao efeito do catodo no CI, ao anodo no córtex orbitofrontal ou ainda a ação simultânea dos dois eletrodos.

Apesar das limitações na interpretação, impostas pela presença da estimulação bipolar no cérebro, nosso trabalho contribui para trazer mais informações acerca de uma nova ferramenta não invasiva, para explorar as funções do SNA, abrindo novas perspectivas terapêuticas para auxiliar no tratamento da HAS.

Sugere-se que novos estudos, utilizando eletrodos extra-cefálicos, acompanhados de recursos de neuroimagem e medidas do fluxo sanguíneo regional do cérebro, sejam realizados, no sentido de ajudar a explicar os mecanismos subjacentes aos nossos achados.

## **REFERÊNCIAS**

1. Esler M, Eikelis N, Schlaich M, Lambert G, Alvarenga M, Dawood T, et al. Chronic mental stress is a cause of essential hypertension: presence of biological markers of stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008;35: 498–502.

2. Palatini P, Julius S. The Role of Cardiac Autonomic Function in Hypertension and Cardiovascular Disease. *Current Hypertension Reports* 2009;11:199–205.
3. Reid CM, Thrift AG. Hypertension 2020: confronting tomorrow's problem today. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005;32:374–76.
4. Burns SM, Wyss JM. The involvement of the anterior cingulate cortex in blood pressure control. *Brain Res* 1985;340:71–7.
5. Tavares RF, Antunes-Rodrigues J, de Aguiar Corrêa FM. Pressor effects of electrical stimulation of medial prefrontal cortex in unanesthetized rats. *J Neurosci Res* 2004;77:613–20.
6. Cogiamanian F, Brunoni AR, Boggio PS, Fregni F, Ciocca M, Priori A. Noninvasive brain stimulation for the management of arterial hypertension. *Med Hypotheses* 2009;74:332–36.
7. Oppenheimer SM, Gelb A, Girvin JPV, Hachinski C. Cardiovascular effects of human insular cortex stimulation. *Neurology* 1992;42:1727.
8. Green AL, Wang S, Owen SL, et al. Deep brain stimulation can regulate arterial blood pressure in awake humans. *Neuroreport* 2005;16:1741–5.
9. Priori A, Hallett M, Rothwell JC. Repetitive transcranial magnetic stimulation or transcranial direct current stimulation? *Brain Stimul* 2009;2:241-5.
10. Vandermeeren Y, Jamart J, Ossemann M. Effect of tDCS with an extracephalic reference electrode on cardio-respiratory and autonomic functions. *BMC Neuroscience* 2010;11:38.
11. Nitsche MA, Liebetanz D, Antal A, Lang N, Tergau F, Paulus W. Modulation of cortical excitability by weak direct current stimulation-technical, safety and functional aspects. *Suppl Clin Neurophysiol* 2003;56:255-76.

12. Nitsche MA, Cohen LG, Wassermann EM, Priori A, Lang N, Antal A, et al. Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain Stimul* 2008;1:206–23.
13. Centre for Health Services Research. Essential hypertension: managing adult patients in primary care. NICE clinical guideline 18. Newcastle: CHSR, niversity of Newcastle upon Tyne, 2004.
14. Nitsche MA, Paulus W. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *J Physiol* 2000;527:633–9.
15. Liebetanz D, Koch R, Susanne M, Fatima K, Walter P, Nitsche MA. Safety limits of cathodal transcranial direct current stimulation in rats. *Clin Neurophysiol* 2009;120(6):1161-7.
16. Poreisz C, Boros K, Antal A, Paulus W. Safety aspects of transcranial direct current stimulation concerning healthy subjects and patients. *Brain Res Bull* 2007;30:208-14.
17. Gandiga PC, Hummel FC, Cohen LG. Transcranial DC stimulation (tDCS): A tool for double-blind sham-controlled clinical studies in brain stimulation. *Clin Neurophysiol* 2006;117:845–50.
18. Boggio PS, Zaghi S, Lopes M, Fregni F. Modulatory effects of anodal transcranial direct current stimulation on perception and pain thresholds in healthy volunteers. *Eur J Neurol* 2008;15:1124–30.
19. Driscoll D, DiCicco G. The Effects of Metronome Breathing on the Variability of Autonomic Activity Measurements. *J Manipulative Physiol Ther* 2000;23:610-4.
20. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996;93:1043-65.
21. Montenegro RA, Farinatti PTV, Fontes EB, Soares PPS, Cunha FA, Gurgel JL, et al. Transcranial direct current stimulation influences the

- cardiac autonomic nervous control. *Neuroscience Letters* 2011;497:32–6.
22. Augustine JR. Circuitry and functional aspects of the insular lobe in primates including humans. *Brain Res Rev* 1996;22:229–44.
23. Oppenheimer SM. Cerebrogenic cardiac arrhythmias: Cortical lateralization and clinical significance. *Clin Auton Res* 2006;16:6–11.
24. Craig AD. How do you feel now? The anterior insula and human awareness. *Nat Rev Neurosci* 2009;10:59–70.
25. Baliki MN, Geha PY, Apkarian AV. Parsing pain perception between nociceptive representation and magnitude estimation. *J Neurophysiol* 2009;101:875–87.
26. Mutschler I, Wieckhorst B, Kowalevski S, Derix J, Wentlandt J, Schulze-Bonhage A, et al. Functional organization of the human anterior insular cortex. *Neuroscience Letters* 2009;457:66–70.
27. Yoshida T, Yoshino A, Kobayashi Y, Inoue M, Kamakura K, Nomura S. Effects of slow repetitive transcranial magnetic stimulation on heart rate variability according to power spectrum analysis. *J Neurol Sci*. 2001;184:77–80.
28. Thayer JF, Lane RD. Claude Bernard and the heart–brain connection: Further elaboration of a model of neurovisceral integration. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 2009;33:81–88.
29. Foster PS, Harrison DW. Magnitude of cerebral asymmetry at rest: Covariation with baseline cardiovascular activity. *Brain and Cognition* 2006;61:286–97.
30. Utz KS, Dimova V, Oppenlander K, Kerkhoff G. Electrified minds: transcranial direct current stimulation (tDCS) and galvanic vestibular stimulation (GVS) as methods of non-invasive brain stimulation in neuropsychology--a review of current data and future implications. *Neuropsychologia* 2010;48:2789-810.

31. Cogliamarian F, Marceglia F, Ardolino G, Barbieri S, Priori A. Improved isometric force endurance after transcranial direct current stimulation over the human motor cortical areas. *Eur J Neurosci* 2007;26:242-49.
32. Radman T, Ramos R, Brumberg JC, Bikson M. Role of cortical cell type and neuronal morphology in electric field stimulation. *Brain Stimulat* 2008;1:247-48.
33. Stagg CJ, Nitsche MA. Physiological Basis of Transcranial Direct Current Stimulation. *Neuroscientist* 2011;17: 37.
34. George MS, Aston-Jones G. Noninvasive techniques for probing neurocircuitry and treating illness: vagus nerve stimulation (VNS), transcranial magnetic stimulation (TMS) and transcranial direct current stimulation (tDCS). *Neuropsychopharmacology Reviews* 2010;35:301-16.
35. Accornero N, Li Voti P, La Riccia M, Gregori B: Visual evoked potentials modulation during direct current cortical polarization. *Exp Brain Res* 2007;178:261-66.

**3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A aplicação da ETCC anódica sobre a região do lobo temporal esquerdo (T3) em mulheres com HAS, não aumentou a VFC. Por outro lado, a ETCC catódica foi capaz de aumentar a VFC, por influenciar áreas corticais envolvidas no controle nervoso autonômico, aumentando significativamente a atividade parassimpática. Os mecanismos que levaram a esse efeito ainda permanecem desconhecidos, o que dificulta afirmar se essas alterações autonômicas foram devido ao efeito do catodo no CI, ao anodo no COF ou ainda a ação simultânea dos dois eletrodos.

A colocação de um dos eletrodos em uma posição extra-cefálica, como por exemplo: no braço direito ou na tíbia, poderia eliminar dúvidas na interpretação. Este procedimento, com uma referência genuinamente neutra poderia ajudar a fundamentar as conclusões desse estudo e de outros recentemente publicados, visto que, pode resolver a ambigüidade na interpretação dos efeitos da ETCC aplicada com dois eletrodos bipolares sobre o cérebro.

Desta forma, sugere-se que sejam realizados novos estudos para ajudar a explicar os mecanismos subjacentes aos nossos achados. É interessante que tais estudos acrescentem em seus protocolos mais procedimentos de avaliação, tais como: recursos de neuroimagem, medidas do fluxo sanguíneo regional do cérebro e monitoramento da atividade autonômica com registro contínuo da frequência respiratória e da PA.

Embora haja limitações, nosso trabalho contribui para o desenvolvimento de uma provável nova ferramenta, não invasiva, para explorar o SNA, ao mesmo tempo em que abre novas perspectivas terapêuticas para tratamento da HAS. Outro fato é que tanto a técnica de intervenção (ETCC) quanto à de

avaliação (VFC) podem ser feitas de forma barata, simples e bastante confiável.

**REFERÊNCIAS**

1. Kapa S, Venkatachalam KL, Asirvatham SJ. The Autonomic Nervous System in Cardiac Electrophysiology An Elegant Interaction and Emerging Concepts. *Cardiology in Review*. 2010;18: 275–284.
2. Vanderlei LCM, Pastre CM, Hoshi RA, Carvalho TD, Godoy MF. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2009; 24: 205-217.
3. Gordon SD, Ubel FA, Shannon DC, Barger AC, Cohen RJ. Power Spectrum Analysis of Heart Rate Fluctuation: A Quantitative Probe of Beat-to-Beat Cardiovascular Control. *Science, News Series*, 1981;213: 220-222.
4. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996; 93:1043-65.
5. Dassi S, Balsamà M, Guzzetti S, Ponti GB, Magni L, Pagani M, Malliani A: Twenty-four-hour power spectral analysis of heart rate variability and of arterial pressure values in normotensive and hypertensive subjects. *J. Hypertens. Suppl*. 1999; 9(6), S72–73.
6. Mussalo H, Vanninen E, Ikäheimo R, Laitinen T, Laakso M, Länsimies E, Hartikainen J: Baroreflex sensitivity in essential and secondary hypertension. *Clin. Auton. Res*. 2002; 12(6), 465–471.
7. Milovanovic B, Trifunovic D, Djuric D. Autonomic nervous system adjustment (ANSA) in patients with hypertension treated with enalapril. *Acta. Physiologica Hungarica*. 2011;98(1),71–84.
8. Burns SM, Wyss JM. The involvement of the anterior cingulate cortex in blood pressure control. *Brain Res* 1985;340:71–7.
9. Tavares RF, Antunes-Rodrigues J, de Aguiar Corrêa FM. Pressor effects of electrical stimulation of medial prefrontal cortex in unanesthetized rats. *J Neurosci Res* 2004;77:613–20.

10. Oppenheimer SM, Gelb A, Girvin JPV, Hachinski C. Cardiovascular effects of human insular cortex stimulation. *Neurology* 1992;42:1727.
11. Sequeira H, Viltart O, Ba-M'Hamed S, Poulain P. Cortical control of somatocardiovascular integration: neuroanatomical studies. *Brain Res Bull* 2000;53: 87–93.
12. Green AL, Wang S, Owen SL, et al. Deep brain stimulation can regulate arterial blood pressure in awake humans. *Neuroreport* 2005;16:1741–5.
13. Cogiamanian F, Brunoni AR, Boggio PS, Fregni F, Ciocca M, Priori A. Noninvasive brain stimulation for the management of arterial hypertension. *Med Hypotheses* 2009;74:332–336.
14. Vandermeeren Y, Jamart J, Ossemann M. Effect of tDCS with an extracephalic reference electrode on cardio-respiratory and autonomic functions. *BMC Neuroscience* 2010;11:38.
15. Nitsche MA, Liebetanz D, Lang N, Antal A, Tergau F, Paulus W. Safety criteria for transcranial direct current stimulation (tDCS) in humans. *Clin Neurophysiol* 2003b;114(11):2220-2.
16. Nitsche MA, Paulus W. Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. *Neurology* 2001; 57(10):1899-901.
17. Nitsche MA, Paulus W. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *J Physiol* 2000;527(Pt 3):633–9.
18. Nitsche MA, Cohen LG, Wassermann EM, Priori A, Lang N, Antal A, et al. Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain Stimul* 2008;1,206–223.
19. Nitsche MA, Liebetanz D, Antal A, Lang N, Tergau F, Paulus W. Modulation of cortical excitability by weak direct current stimulation-technical, safety and functional aspects. *Suppl Clin Neurophysiol* 2003a; 56:255-76.

20. Liebetanz D, Koch R, Mayenfels S, König F, Paulus W, Nitsche MA. Safety limits of cathodal transcranial direct current stimulation in rats. *Clin Neurophysiol* 2009;120(6):1161-7.
  
21. Montenegro RA, Farinatti PTV, Fontes EB, Soares PPS, Cunha FA, Gurgel JL, et al. Transcranial direct current stimulation influences the cardiac autonomic nervous control. *Neuroscience Letters* 2011; 497:32–36.



## APÊNDICE 1

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Maceió – AL, 12/11/2009

Senhor (a) Pesquisador (a), Alexandre Hideki Okano  
Luís Paulo de Souza Gomes

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), em 12/11/2009 e com base no parecer emitido pelo (a) relator (a) do processo nº 017264/2009-90 sob o título, **efeitos da estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) sobre a variabilidade da frequência cardíaca em obesos** vem por meio deste instrumento comunicar a aprovação do processo supra citado, com base no item VIII.13, b, da Resolução nº 196/96.

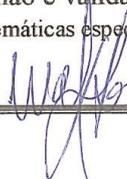
O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS 196/96, item V.4).

É papel do(a) pesquisador(a) assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e sua justificativa. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o(a) pesquisador(a) ou patrocinador(a) deve enviá-los à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem incluídas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item IV. 2.e).

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos no Cronograma do Protocolo e na Res. CNS, 196/96.

Na eventualidade de esclarecimentos adicionais, este Comitê coloca-se a disposição dos interessados para o acompanhamento da pesquisa em seus dilemas éticos e exigências contidas nas Resoluções supra – referidas. Esta aprovação não é válida para subprojetos oriundos do protocolo de pesquisa acima referido. (\*) Áreas temáticas especiais



Dr. Dr. Walter Matias Lima  
Coordenador do Comitê de Ética