



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO
COMPORTAMENTO

IGOR TCHAIKOVSKY MELLO DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO NEUROFISIOLÓGICA DO EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ACÚSTICA
BINAURAL NÃO-PERÍODICA EM PACIENTES EPILÉTICOS E CONTROLES SAUDÁVEIS**

RECIFE
2022

IGOR TCHAIKOVSKY MELLO DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO NEUROFISIOLÓGICA DO EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ACÚSTICA
BINAURAL NÃO-PERÍODICA EM PACIENTES EPILÉTICOS E CONTROLES SAUDÁVEIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Neurociências. Área de concentração: Neurociências

Orientador: Belmira Lara da Silveira Andrade da Costa

Coorientador: Marcelo Cairrão de Araújo Rodrigues

RECIFE

2022

Catalogação na Fonte
Bibliotecário: Rodrigo Leopoldino Cavalcanti I, CRB4-1855

O48c Oliveira, Igor Tchaikovsky Mello de.
 Caracterização neurofisiológica do efeito da estimulação acústica binaural não-
 periódica em pacientes epiléticos e controles saudáveis / Igor Tchaikovsky Mello de
 Oliveira. – 2022.
 104 f. : il. ; 30 cm.

 Orientadora : Belmira Lara da Silveira Andrade da Costa.
 Coorientador : Marcelo Cairrão de Araújo Rodrigues.
 Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências
 Médicas. Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do
 Comportamento. Recife, 2022.

 Inclui referências, apêndices e anexos.

 1. Epilepsia Resistente a Medicamentos. 2. Eletroencefalografia. 3. Rede de
 Modo Padrão. 4. Estudo de Validação. I. Costa, Belmira Lara da Silveira Andrade
 da (Orientadora). II. Rodrigues, Marcelo Cairrão de Araújo (Coorientador). III.
 Título.

 616.853 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2023-012)

IGOR TCHAIKOVSKY MELLO DE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO NEUROFISIOLÓGICA DO EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ACÚSTICA
BINAURAL NÃO-PERIÓDICA EM PACIENTES EPILEPTICOS E CONTROLES SAUDÁVEIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Neurociências. Área de concentração: Neurociências

Aprovada em: 24/02/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a Sandra Lopes de Souza
Universidade Federal de Pernambuco
Presidente da Banca

Prof^a. Dr^a Rosana Christine Cavalcanti Ximenes
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr^o Pedro Valadão Carelli
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr^o Wellington Pinheiro dos Santos
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr^o Raphael Silva do Rosário
Universidade Federal da Bahia

Dedico esse momento a minha querida mãe, que a pouco retornou ao campo espiritual, me tenho certeza que emana as melhores energias para me dar toda força que preciso. Muito obrigado pelo o reencontro espiritual que vivemos nessa vida, te amo mãe.

AGRADECIMENTOS

Muitas pessoas foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho e a elas devo dar o merecido crédito.

Agradeço primeiramente aos meus pais que me forneceram toda a base para a construção das virtudes que possuo, Antônio Wellington e Erciliane Melo e aos meus irmãos, Lidiane Maria, Ercilia Maria, Kildaire Pereira, Kaiser Pereira pelo total apoio, interesse, preocupação e risadas até mesmo nos momentos de dificuldade. Vocês são os responsáveis pelos meus valores e princípios e foram determinantes para a minha caminhada até aqui.

A minha esposa Ana Flávia por ser uma mulher firme, forte e muito corajosa, pois encarou de frente o desafio que é ser esposa de quem realiza um doutorado. Mas mais ainda porque ela me forneceu a maior força que o universo me deu, meu filho Theo, que me proporcionou o melhor reencontro espiritual. Theo, meu filho, tal finalização não poderia ser possível sem que sua presença fosse firmada dentro de mim, a todos os dias de dificuldades, tudo sanava quando eu tinha seu sorriso e toque em casa. Fomos impactados por uma pandemia mundial e você, sua mãe e eu vivemos meses maravilhosos que apesar do confinamento em casa, eu pude acompanhar todos os estágios da sua evolução cognitiva e comportamental na fase inicial da sua vida, e isso me moldou de uma forma maravilhosa e me deu mais do que forças, me deu vontade de viver e estar aqui concluído esse trabalho. Vocês se fizeram presente garantindo todo apoio emocional e me incentivando principalmente a ser sempre o melhor que eu posso ser.

Este trabalho não seria possível sem o apoio da minha eterna parceira do Grupo de Neurodinâmica, Marília Marinho com quem troquei muito mais do que conhecimento mas trocamos força em nos apoiar nesse momento de um doutorado. Agradeço pelos melhores momentos de risadas, pelos cafés da tarde, pela melhor compreensão e paciência que você teve comigo.

Não posso deixar de agradecer a todos os professores que por mim passaram, desde o jardim de infância, até a faculdade e até a pós-graduação. Todos vocês foram a peça chave que me deu vontade de querer ingressar para a vida acadêmica, tenho nomes que levarei para sempre no meu coração. Cada um teve seu papel no momento correto e que me ajudou a crescer e me desenvolver no meio acadêmico.

Aos meus orientadores Profº Dr. Marcelo Cairrão Araújo Rodrigues e a Profº Drª Belmira Lara da Silveira Andrade da Costa, ao Profº Marcelo eu tenho um enorme sentimento de gratidão. Tenho na minha memória a sua primeira aula da graduação de fisiologia sobre propriedades das células excitáveis, desde aquele primeiro momento eu sabia aonde seria meu futuro. Muito obrigado por todo ensinamento e paciência nesses 10 anos de jornada. Os laços que criamos nunca serão perdidos, muito obrigado Professor Marcelo. A Profª Belmira, que é muito mais do que uma orientadora, quem conviveu com ela sabe, o quanto ela acolhe todos os alunos que por ela passam, tem uma voz branda, calma e emana uma paz, tal qual, uma mãe. Muito obrigado Professora Belmira.

A todos vocês eu agradeço pois sem vocês esse trabalho não teria acontecido.

Talvez não cheguei aonde planejei ir. Mas cheguei, sem querer, aonde meu
coração queria chegar, sem que eu o soubesse.
(ALVES, s.d. apud INSTITUTO RUBEM ALVES, 2023)

RESUMO

Aproximadamente um terço dos pacientes com epilepsia é refratário a terapia farmacológica contemporânea. Procedimentos invasivos como a cirurgia nem sempre são indicados, e quando realizados não há garantia completa de sucesso. Diante da necessidade de métodos alternativos e complementares para controle da epilepsia, nosso grupo de pesquisa científica desenvolveu e patenteou a Estimulação Acústica Binaural não-Periódica (EABNP). Resultados preliminares da utilização da EABNP em pacientes com epilepsia refratária demonstraram a eficácia desta estimulação na redução de atividades epileptiformes no eletroencefalograma (EEG), bem como, a redução espontânea do número de crises. Entretanto, não se sabe, ao certo, o possível mecanismo de bloqueio neurofisiológico envolvidos nos efeitos de bloqueio de crise desta técnica. A hipótese de nosso trabalho é que a EABNP induzirá a dessincronização dos ritmos oscilatórios de áreas corticais a partir do córtex temporal (auditivo primário) e se estendendo as outras localidades do cérebro, como córtex pré frontal e parietal. Pacientes com epilepsia refratária e indivíduos saudáveis, foram expostos a um ruído branco por 10 minutos e EABNP também por 10 minutos, com registro simultâneo de EEG de alta resolução (64 canais), para posterior análise *off-line* da atividade da corrente cortical com a ferramenta de neuroimagem baseada no EEG denominada de tomografia eletromagnética cerebral de baixa resolução (sLoreta). Com as análises de imagem geradas pelo sLoreta, foi possível observar nos pacientes com epilepsia refratária durante a EABNP ocorreu um aumento da atividade de corrente cortical de áreas relacionadas a rede de modo padrão quando comparado ao ruído branco. Entre os indivíduos saudáveis foi observado um aumento de atividade cortical de áreas relacionadas ao processamento auditivo sonoro, durante a EABNP e o ruído branco. Acreditamos que este trabalho poderá contribuir para a padronização de uma nova ferramenta não-farmacológica para tratamento da epilepsia refratária.

Palavras-chave: epilepsia refratária; eletroencefalografia; rede de modo padrão; estudo de validação.

ABSTRACT

Approximately one-third of patients with epilepsy are refractory to contemporary pharmacological therapy. Invasive procedures such as surgery are not always indicated, and when performed there is no complete guarantee of success. Faced with the need for alternative and complementary methods to control epilepsy, our scientific research group developed and patented Non-Periodic Binaural Acoustic Stimulation (NPS). Preliminary results of the use of NPS in patients with refractory epilepsy, the effectiveness of this stimulation in the reduction of epileptiform activities in the electroencephalogram (EEG), as well as the reduction in the number of seizures. However, the possible neurophysiological blocking mechanism involved in the seizure-blocking effects of this technique is not known for sure. Our work hypothesises that EABNP will induce desynchronization of oscillatory rhythms in cortical areas starting from the temporal cortex (primary auditory) and extending to other locations in the brain, such as the prefrontal and parietal cortex. Patients with refractory epilepsy and healthy individuals were exposed to white noise for 10 minutes and NPS also for 10 minutes, with simultaneous recording of high-resolution EEG (64 channels), for subsequent offline analysis of cortical current activity with the EEG-based neuroimaging tool called low-resolution brain tomography (sLoreta). With the image analysis generated by sLoreta, it was possible to observe in patients with refractory epilepsy during NPS an increase in cortical current activity in areas related to the standard mode network occurred when compared to white noise. In healthy individuals, an increase in cortical activity in areas related to auditory sound processing was observed during NPS and white noise. We believe that this work may contribute to the standardization of a new non-pharmacological tool for the treatment of refractory epilepsy.

Keywords: drug resistant epilepsy; electroencephalogram; default mode network; validation study.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Áreas de Brodmann	25
Figura 2 –	Desenho experimental do protocolo de aquisição de EEG e da divisão dos pacientes em ouvir RB ou EABNP	33
Imagem 1 –	Setup do sistema de eletroencefalograma de 64 canais do laboratório do Grupo de Neurodinâmica	34
Figura 3 –	Estimulação acústica binaural não-periódica	35
Figura 4 –	Ruído branco	36
Figura 5 –	Áreas corticais ativadas por ruído branco e EABNP em cérebros controles saudáveis	39
Figura 6 –	Áreas corticais ativadas por ruído branco e EABNP em pacientes com epilepsia refratária	40
Figura 7 –	Áreas corticais ativadas por EABNP em cérebros controle saudáveis comparados a cérebros de pacientes com epilepsia refratária	41
Figura 8 –	Núcleos de processamento neural da via auditiva central	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BA	área de broadman
DMN	<i>default mode network</i>
EANBP	Estimulação Acústica Binaural não-Periódica
EEG	Eletroencefalograma
fMRI	ressonância magnética funcional
ILAE	International League Against Epilepsy
INPI	Instituto Nacional da propriedade Industrial
NPS	estimulação não periódica
SE	Status epilepticus
SUDEP	sudden unexpected death in epilepsy
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEP	Tomografia por Emissão de Pósitrons
TMT	2,5-di-hidro-2,4,5-trimetiltiazolina
VNS	estimulação do nervo vago

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1	<i>Epilepsia</i>	16
2.2	<i>Epidemiologia</i>	17
2.3	<i>Mortalidade</i>	17
2.4	<i>Tratamento contemporâneo da epilepsia</i>	18
2.5	<i>Sincronização, Dessincronização, Antagonismo de Circuitos Neurais e a Estimulação elétrica anticonvulsivante em modelos animais</i>	19
2.6	<i>Estimulação acústica binaural não periódica anticonvulsivante</i>	22
2.7	<i>Estimulação acústica binaural em humanos</i>	23
2.8	<i>Eletroencefalografia e Densidade de corrente cortical pela ferramenta Loreta</i>	24
3	HIPÓTESE E JUSTIFICATIVA	28
4	OBJETIVOS	29
4.1	<i>Objetivo Geral</i>	29
4.1	<i>Objetivos Específicos</i>	29
5	MÉTODO	30
5.1	<i>Tipo de estudo</i>	30
5.2	<i>Local e comitê de ética</i>	30
5.3	<i>Aspectos éticos</i>	30
5.4	<i>Riscos e benefícios</i>	30
5.5	<i>Participantes e cálculo amostral</i>	31
5.6	<i>Avaliação do Eletroencefalograma</i>	32
5.7	<i>Estimulação acústica binaural não-periódica e ruído branco</i>	35
5.8	<i>Análises da atividade de densidade de corrente cortical do eletroencefalograma pela ferramenta Loreta</i>	36
6	RESULTADOS	38
7	DISCUSSÃO	42
8	CONCLUSÃO	49

REFERÊNCIAS	50
APÊNDICE A – TERMO DE CONSETIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE	60
APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE	63
APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO DOS EFEITOS ADVERSOS DA ESTIMULAÇÃO ACÚSTICA BINAURAL NÃO-PERIÓDICA	65
APÊNDICE D – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	66
ANEXO A – ARTIGO ORIGINAL DE PRIMEIRA AUTORIA “BEHAVIOR AND ELECTROPHYSIOLOGICAL EFFECTS ON STRIATUM-NIGRA CIRCUIT AFTER HIGH FREQUENCY STIMULATION. RELEVANCE TO PARKISSON AND EPILEPSY” PUBLICADO NA “THE INTERNATIONAL JOURNAL OF NEUROSCIENCE”	68
ANEXO B – ARTIGO CIENTÍFICO DE COLABORAÇÃO “THE FUNCTIONAL NEUROMETRY OF NELSON ALVES PEREIRA JÚNIOR: AN ADVANCED METHOD OF MAPPING AND BIOFEEDBACK TRAINING OF THE AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM FUNCTIONS” PUBLICADO NA “JOURNAL OF PSYCHOLOGY AND PSYCHOTHERAPY RESEARCH”	85

1 INTRODUÇÃO

A epilepsia tem como definição ser um distúrbio crônico da atividade neuronal, que geram disparos intesos, sincronizados e rítmicos (SHARMA et al., 2015; KAILA et al., 2014; KAPLAN et al., 2016). Com uma prevalência de cerca de 4% da população mundial (FIEST et al., 2017). Aproximadamente, 20%-30% de todas as pessoas com epilepsia não respondem corretamente aos tratamentos farmacológicos contemporâneos (SRIDHARAN, 2002; LEE; SHON; CHO, 2012; KWAN AND BRODIE, 2013; THOMPSON et al., 2015) o que estimula a pesquisa por novas e mais eficazes abordagens terapêuticas.

Para a proposição de novos tratamentos, é preciso primeiramente compreender os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na epilepsia. Acredita-se que a origem das crises está profundamente ligada a uma característica de hiperexcitabilidade e hipersincronismo de atividade de diversos grupamentos de neurônios (PENFIELD W; JASPER H, 1954; COTA, 2009). Uma atividade originalmente fisiológica de atividade neuronal pode ser transformado em atividade excessiva em porções hiperexcitáveis do tecido, por prováveis mecanismos de retroalimentação positiva (MCNAMARA, 1994). Os circuitos neurais, por sua vez, formam redes reverberantes que são responsáveis por propagar esta atividade neural exacerbada para outras porções do encéfalo, sincronizando-as e sustentando-as (DOMINGUEZ et al., 2005; PINTO et al., 2005; TOLNER et al., 2005). Aparentemente, a dessincronização ou bloqueio do sincronismo a atividade epiléptica é responsável por bloquear o recrutamento hipersincronizante, amenizando eventos ictais.

Em modelos animais, a estimulação elétrica não-periódica em estruturas profundas do cérebro, como a amígdala, possui efeito anticonvulsivante e reduz o número, duração e gravidade das crises (COTA et al., 2009, OLIVEIRA, 2018). Os resultados desses estudos demonstraram que a estimulação não-periódica tem propriedades anticonvulsivantes robustas e também eficiência em uma situação que se assemelha mais ao cenário de modelos em humanos, em que as crises que se repetem espontaneamente surgem de tecido hiperexcitável (SUTULA et al., 2018). Este estudo ainda agrega evidências à hipótese de que as crises são episódios de hipersincronismo neural que podem ser suprimidas por um estímulo dessincronizante.

Estes fatos abrem caminho para a investigação clínica de estimulação elétrica não estruturada para a supressão de crises (COTA et al., 2009; OLIVEIRA, 2014; OLIVEIRA et al 2018). Em nosso laboratório com o uso dos programas Matlab® 2015 e Audacity 2.0, criamos e patenteamos (BR 10 2019 009701 9) uma frequência auditiva de base de 400 Hz interrompidos aleatoriamente por eventos rápidos (4 pulsos por segundo), de 420 Hz, com duração de 50 microssegundos cada um. A cada segundo o intervalo entre os pulsos é aleatório, mas sempre garantindo a proporção de 4 pulsos por segundo. Em parceria com o setor de Neurologia do Hospital das Clínicas – UFPE – Recife, Pernambuco, foi realizado um teste clínico em humanos com epilepsia refratária.

Os resultados iniciais foram promissores, tendo a estimulação auditiva binaural não periódica (EABNP) reduzido o número de eventos epileptiformes no eletroencefalograma (EEG) de pacientes com epilepsia refratária, durante e logo após a aplicação da EABNP, e também aumentado a qualidade de vida dos pacientes 30 dias depois do término da intervenção (Lucena e Oliveira, 2018, comunicação pessoal, dados não-publicados). Entretanto, há ainda muitas lacunas a respeito do efeito neurofisiológico da EABNP, e que precisam ser preenchidas antes que esta técnica se transforme numa proposta clínica concreta.

Apesar da EABNP ter demonstrado propriedades anticonvulsivantes em pacientes com epilepsia refratária, seu efeito neurofisiológico e seu mecanismo de ação no bloqueio de crises ainda não foram descritos. Este é o principal objetivo desta tese, que tem como hipótese de que a EABNP causará dessincronização dos ritmos de atividade elétrica do cérebro, quantificados por EEG e sLoreta, e que terá efeitos diferentes em pacientes com epilepsia e controles saudáveis. Este trabalho irá colaborar para uma melhor compreensão de uma nova técnica não-farmacológica de neuromodulação com possível aplicação em pacientes com epilepsia refratária.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Epilepsia

A epilepsia é uma doença neurológica crônica com múltiplas causas, caracterizada pelo sincronismo e oscilações neuronais errôneos, que resultam em disparos intensos, espontâneos, sincronizados e rítmicos (SHARMA et al., 2015; KAILA et al., 2014; KAPLAN et al., 2016). A epilepsia está associada a diversas comorbidades neurobiológicas, psicológicas e cognitivas que impactam na qualidade de vida dos pacientes (FISHER et al., 2005). É uma das patologias neurológicas mais prevalentes, acometendo cerca de 4% da população mundial (FIEST et al., 2017). Para o diagnóstico, é necessário a ocorrência de pelo menos duas crises convulsiva não provocadas (ou reflexas) ocorrendo com um intervalo superior a 24h; uma crise convulsiva não provocada (ou reflexa) e a probabilidade de ocorrência de outras crises similar ao risco geral de recorrência após duas crises convulsivas não provocadas, ocorrendo nos próximos 10 anos; ou diagnóstico de um distúrbio epilético (FISHER et al., 2014).

A International League Against Epilepsy (ILAE) esclarece que a epilepsia tem sido tradicionalmente mencionada como um distúrbio ou um grupo de distúrbios, para enfatizar que é composta de muitas doenças e condições distintas, e que podem ser resultantes de muitas causas diferentes (FISHER et al., 2005, 2014). Portanto, a o diagnóstico da epilepsia requer informações clínicas específicas, incluindo idade de início, manifestações comportamentais, comorbidades, etiologias, sinais e sintomas associados ao sistema nervoso central, gravidade e decurso. Outros achados clínicos como o do Eletroencefalograma (EEG) e de exames de imagem também são necessários para maior precisão no diagnóstico (DEVINSKY et al., 2018).

De fato, existem muitas razões pelas quais a classificação e o diagnóstico da epilepsia é importante, tanto para prognóstico e escolha do tratamento dos pacientes, ao qual se baseia contemporaneamente por ser farmacológico; quanto para o avanço do conhecimento sobre a epilepsia. Sendo assim permite a popularização do conhecimento, acerca dos estigmas com os pacientes e a comunicação entre o manejo clínico, ensino e pesquisa, bem como a busca de novos avanços terapêuticos.

2.2 Epidemiologia

A epilepsia afeta aproximadamente 70 milhões de pessoas de todas as idades, gêneros e raça, sendo uma das mais prevalentes desordens neurológicas de todo o mundo (BEGHI et al., 2018). As epilepsias de origem focal são responsáveis por cerca de 60% de todos os casos de epilepsia, e a mais comum é a epilepsia do lobo temporal.

Nos países desenvolvidos, a prevalência de epilepsia é de 5,8/1.000 habitantes, enquanto nas áreas rurais de países em desenvolvimento é de 15,4/1.000 habitantes (NGUGI et al., 2010). A incidência da epilepsia é de 45/100.000/ano em países desenvolvidos, em comparação com 81,7/100.000/ano em países em desenvolvimento (NGUGI et al., 2011). Portanto, fica claro que a epilepsia é maior em países de baixa e média renda em decorrência dos maiores fatores de risco, como acidentes, risco de traumas e lesões, infecções, intercorrências no pré e pós-natal e outros (SINGH e TREVICK, 2016; FIEST et al., 2017).

A prevalência de epilepsia tende a ser mais baixa no início da vida, aumenta durante a adolescência e no início da idade adulta, diminuindo após os 30 anos, e permanecendo constante pelo resto da vida (FIEST et al., 2017). A incidência de epilepsia é maior em homens do que em mulheres, e em pessoas de idades mais jovens como, na infância e no início infância e pessoas de idade mais avançada, acima de 50-60 anos de idade.

2.3 Mortalidade

A mortalidade na epilepsia é uma causa de preocupação crescente no mundo, considerando que as taxas em pacientes com epilepsia são até três vezes maiores em comparação com a população saudável (ESPINOSA-JOVEL et al., 2018). As causas mais comuns incluem a morte súbita e inesperada em epilepsia (SUDEP- do inglês, *sudden unexpected death in epilepsy*), Status epilepticus (SE), afogamento, acidentes, quedas e queimaduras; e também outras causas não relacionadas com a epilepsia, como pneumonia por aspiração, suicídio, efeitos contralaterais de

medicamentos anticonvulsivantes e/ou medicamentos psiquiátricos (DEVINSKY et al., 2018).

A SUDEP é a principal causa de morte da epilepsia (TOMSON et al., 2008). O risco de SUDEP a cada 1000 pessoas com epilepsia por ano varia de 6,3 a 9,3 em candidatos à cirurgia ou em pacientes que continuam com crises convulsivas após cirurgia de epilepsia, ou seja os pacientes com epilepsia refratária (TOMSON et al., 2008; DEVINSKY et al., 2016).

A taxa de mortalidade relacionada à epilepsia também é maior em países em desenvolvimento, de baixa e média renda, quando comparado aos países desenvolvidos, o que está diretamente associado à falta de acesso a informação, busca e precarização de assistência médica adequada e direcionada para a pessoa (LEVIRA et al., 2017).

2.4 Tratamento contemporâneo da epilepsia

O tratamento atual das epilepsias é fundamentalmente realizado através de terapia medicamentosa. A escolha do medicamento é complexa, e sem dúvida, o tipo de crise ou distúrbio epiléptico é crucial nessa decisão. Entretanto, em muitos casos, as causas das crises são de etiologia desconhecidas o que gera diversas dificuldades para a escolha do melhor tratamento terapêutico (ENGEL, 2011; FISHER et al., 2014; WERHAHN et al., 2015).

O primeiro fármaco anticonvulsivante a ser comercializado foi o brometo de potássio, Charles Locock, em 1857, observou sua eficiência no controle das crises em 14 mulheres com epilepsia (PEARCE, 2002). A partir de então, medicamentos anticonvulsivantes são a principal abordagem para o tratamento das epilepsias e apresentam eficácia terapêutica em aproximadamente dois terços dos pacientes (SRIDHARAN, 2002; LEE; SHON; CHO, 2012; HAO et al., 2013; THOMPSON et al., 2015).

Portanto essa eficácia, gerou busca e pesquisa por outros medicamentos de primeira, segunda ou terceira geração, sendo classificados de acordo com a época em que os fármacos foram introduzidos no mercado e com as suas características

moleculares e mecanismos de ação. Cerca de 15 deles (de segunda geração) foram introduzidos durante os anos 90, ampliando as oportunidades de tratamento para cada paciente. Atualmente estão disponíveis cerca de 27 fármacos anticonvulsivantes licenciados, os resultados gerais obtidos até então não foram alterados, portanto um terço dos pacientes continuam não respondendo à terapia medicamentosa.

Todos estes esforços de busca e pesquisa se devem ao elevado nível de pacientes refratários a terapia medicamentosa, números estes que permaneceram inalterados ao longo dos anos, apesar dessas novas opções disponíveis no mercado (MESRAOUA et al., 2019). Além disso, alguns dos medicamentos utilizados no tratamento das epilepsias demonstram uma gama variada de efeitos colaterais, como o surgimento de sintomas depressivos em ensaios clínicos, e também um aumento do risco de autoagressão ou comportamento suicida na prática clínica (ANDERSON et al., 2010). Portanto, a cirurgia de epilepsia ainda continua sendo o tratamento mais eficaz para epilepsias refratárias (PERUCCA et al., 2018) o que estimula constantemente a busca por novas e mais eficazes abordagens terapêuticas.

A proposição de novos fármacos no mercado é uma tarefa muito cara e demorada, é preciso primeiramente compreender os mecanismos fisiopatológicos envolvidos. Além do elevado custo, o tempo desse processo pode chegar a 15 anos, com uma taxa de sucesso máximo de apenas 11,5% (DIMASI, 2001; DIMASI et al., 2003; MORGAN et al., 2011). Estes são alguns dos dados que justificam os declínios na produtividade da indústria farmacêutica nas áreas de pesquisa e desenvolvimento de fármacos ao longo dos anos (DIMASI, 2001).

Nesse contexto, a busca de novas abordagens possíveis não farmacológicas vem crescendo ao longo dos anos nas pesquisas tanto de base em modelos animais, quanto na translação de sua importância para os pacientes principalmente com epilepsia refratária.

2.5 Sincronização, Dessincronização, Antagonismo de Circuitos Neurais e a Estimulação elétrica anticonvulsivante em modelos animais

A epilepsia tem sido associada à sincronização excessiva de grandes populações neuronais (MCNAMARA, 1994; ENGEL, 1995; FISHER et al., 2017; WAGNER et al., 1975). Mas há controvérsias (MORAES et al., 2021; DOMINGUEZ et al., 2005; JIRUSKA et al., 2013; MAJUMDAR et al., 2014; SCHEVON et al., 2007), já que a dessincronização é frequentemente observada antes das crises ou durante seus estágios iniciais (JIRUSKA et al., 2013). Em contraste, a alta sincronização no final das crises pode facilitar o término (MAJUMDAR et al., 2014). Como afirmado por Jiruska, 2013, e colaboradores: “as crises resultam em interações complexas entre redes neuronais caracterizadas por heterogeneidade de disparo neuronal e evolução dinâmica de sincronização”.

A complexidade do cérebro e a intercambialidade entre circuitos neurais ou *hubs* conectados temporalmente (GARCIA-CAIRASCOa, 2009; GARCIA-CAIRASCOb, 2009; TEJADA et al., 2013; IASEMIDIS, 1996) é um fator chave. Existem circuitos neurais reverberantes responsáveis por propagar essa atividade neural exacerbada para outras estruturas cerebrais, sincronizando algumas redes e dessincronizando outras (DOMINGUEZ et al., 2005, SCHMIDT et al., 2021; PEGG et al., 2021; SHIH et al., 2021). Isso pode ser reproduzido em simulações baseadas em computador (CARVALHO et al., 2021).

Sob certas circunstâncias, os circuitos neuronais podem competir, antagonizando seus efeitos. Isso tem sido chamado de “antagonismo de circuito” (ROSSETI et al., 2006; DAL-CÓL et al., 2008; GARCIA-CAIRASCO et al., 2017; DELFINO-PEREIRA et al., 2020; GARCIA-CAIRASCO et al., 2021) ou “competição de sistemas” (EBERT et al., 2000). Por exemplo, a estimulação olfativa com tolueno (EBERT et al., 2000) ou 2,5-di-hidro-2,4,5-trimetiltiazolina (TMT) (ZIBROWSKI et al., 1997), um “odor de predador”, bloqueou a suscetibilidade a crises convulsivas em ratos com epilepsia (DELFINO-PEREIRA et al., 2020).

O antagonismo do circuito pode explicar a eficácia dos tratamentos não farmacológicos da epilepsia (por exemplo, estimulação do nervo vago, VNS). O VNS induz modificações de circuitos *bottom-up*, uma vez que estimula uma via aferente para o tronco encefálico e conectando para o neocórtex, alterando a conectividade funcional (BARTOLOMEI et al., 2016). Já o VNS tem efeitos indesejáveis e

dificuldades comuns a qualquer técnica invasiva, como procedimentos cirúrgicos, troca de baterias, possibilidade de infecções, custos financeiros (CUKIERT et al., 2021). Na VNS, pode-se também desenvolver rouquidão, dor de garganta, tosse e dispneia (CUKIERT et al., 2021). Apesar desses efeitos colaterais indesejados, a VNS é considerada atualmente um tratamento anticonvulsivante (CUKIERT et al., 2021). O VNS não atua em alvos de receptores específicos em nível molecular (LARIVIÈRE et al., 2021). Em vez disso, este tipo de estimulação induz mudanças baseadas em circuito, muitos neurotransmissores e tipos de células diferentes (por exemplo, células da glia (MARTORELL et al., 2021; GRIGOROVSKY et al., 2020)).

Mudanças nos circuitos neuronais e nos *hubs* de conectividade do cérebro podem produzir efeitos anticonvulsivantes, uma vez que podem levar a diferentes polissincronizações e estados funcionais (IZHIKEVICH, 2006; COTA et al., 2016). Uma comparação da ativação molecular, celular, de microcircuito e de circuito local no contexto do controle de crises pode ser encontrada em Cota em 2016 e Moraes em 2021. Seus experimentos foram capazes de desenvolver, a estimulação não periódica (NPS) em modelos animais (COTA et al., 2009). É um protocolo de estimulação elétrica aplicado a estruturas cerebrais com pulsos bipolares aleatórios com intuito anticonvulsivante (COTA et al., 2009).

O NPS interfere na sincronicidade dos circuitos neurais (COTA et al., 2021), e seus efeitos anticonvulsivantes foram demonstrados em diferentes modelos animais de convulsões agudas (COTA et al., 2009; DE CASTRO et al., 2012; de OLIVEIRA et al., 2019) e crônicas (de OLIVEIRA et al., 2014). O efeito anticonvulsivante do NPS foi confirmado por grupos independentes (SANTOS-VALENCIA et al., 2019). O NPS atinge seus efeitos dessincronizando ou prejudicando níveis aberrantes de sincronização (MESQUITA et al., 2011). O NPS é promissor, mas é baseado em eletrodos invasivos dentro de áreas cerebrais específicas.

Os resultados desses estudos demonstraram que a estimulação não-periódica tem propriedades anticonvulsivantes robustas e também eficiência em uma situação que se assemelha mais ao cenário clínico, em que as crises que se repetem espontaneamente e surgem de tecido hiperexcitável (SUTULA et al., 2018). Este estudo ainda agrega evidências à hipótese de que as crises são episódios de

hipersincronismo neural que podem ser suprimidas por uma dessincronização desestruturadora. Tais fatos abrem caminho para a investigação clínica de estimulação elétrica temporariamente não estruturada para a supressão de crises (COTA et al., 2009; OLIVEIRA, 2014; OLIVEIRA et al 2018).

Estes dados obtidos com modelos animais de epilepsia são animadores, mas necessitam ser adaptados para aplicação humana (SMITH et al, 2017). A proposição de métodos translacionais nem sempre é fácil, dadas as limitações éticas e técnicas.

2.6 Estimulação acústica binaural não periódica anticonvulsivante

Com base nestes dados em pesquisas em modelos de epilepsia e pensando na aplicação humana, nosso grupo de pesquisa desenvolveu e patenteou perante ao Instituto Nacional da propriedade Industrial - INPI, uma técnica de estimulação não-periódica baseada em estimulação acústica. Ela foi denominada Estimulação Acústica Binaural não-Periódica (EABNP) e em inglês ANPS (*acoustic non-periodic stimulation*). Este tipo de estimulação possui as vantagens de ser não-farmacológica, não-invasiva e de baixo custo.

Os resultados preliminares em aplicação em humanos foram promissores, tendo a estimulação reduzido o número de eventos epileptiformes (espículas) no EEG de pacientes com epilepsia refratária, durante e logo após a aplicação da EABNP. Deixando parcialmente elucidado de que a EABNP modifica o padrão de atividade neural durante o momento da crise convulsiva, pois as espículas do EEG de pacientes com epilepsia possuem relação direta com a severidade da crise. Foi possível também constatar o aumento da qualidade de vida com o questionário, composto por 26 perguntas da, World Health Organization Quality of Life instrument - WHOQOL-bref (FLECK et al., 2000), dos pacientes, 30 dias depois do término da intervenção (Lucena e Oliveira, 2018, comunicação pessoal, dados não-publicados).

Entretanto, há ainda muitas lacunas a respeito do possível mecanismo neurofisiológico protetor e seus possíveis efeitos sobre a atividade cerebral da EABNP, que precisam ser preenchidas antes que esta técnica se transforme numa proposta clínica concreta.

2.7 Estimulação acústica binaural em humanos

A reprodução em um dos ouvidos de um estímulo sonoro com intensidade e frequência contínua, e no outro ouvido, a reprodução do mesmo estímulo, com semelhante intensidade, porém com a frequência ligeiramente diferente, produz a percepção auditiva de pulsos ou batidas na informação auditiva desses estímulos sonoros (CHAIEB et al., 2015; GAO et al., 2014). Essa percepção auditiva, descoberta e alcunhada quase há um século por H. W. Dove, como tons binaurais, foi amplamente estudada por Oster (1973) que descreveu detalhadamente os mecanismos fisiológicos para sua percepção.

A batida ou tom Binaural é um estímulo auditivo que ocorre como resultado da entrada sonora no ouvido humano de sons com frequências ligeiramente diferentes (OSTER, 1973). A percepção do tom binaural é o resultado do processamento das sinapses neuronais que ocorrem em estágios subcorticais do processamento auditivo, principalmente no complexo olivar superior e no colículo inferior, que combinam a informação de ambas entradas auditivas antes do som atingir o córtex para ser processada e ser captada pelo EEG (KASPRZAK, 2011).

A frequência gerada pela diferença das frequências dos sons, reproduzidos em cada ouvido, é conhecida como a terceira frequência. Por exemplo, se com o auxílio de um fone de ouvido estéreo é reproduzido no ouvido direito um tom com 400 Hz de frequência e no ouvido esquerdo o mesmo tom, mas com 405 Hz de frequência, logo a terceira frequência, que é o tom binaural, será o resultado da diferença de 405 Hz – 400 Hz, ou seja, 5 Hz.

Diversas pesquisas, vêm encontrando resultados que atraem os olhos dos pesquisadores sobre o potencial efeito da estimulação neural com tons binaurais como uma técnica acústica de modulação cognitivo (COLZATO et al., 2017) e comportamental (WAHBEH; CALABRESE; ZWICKEY, 2007).

Sabe-se, contudo, que o complexo olivar superior, tem um papel fundamental, pois esta estrutura possui neurônios sensíveis a diferenças entre oscilações do sinal acústico e que disparam potenciais de ação a uma taxa correspondente a diferença em cada ouvido, em suas projeções para o colículo inferior, que na condução até o

córtex auditivo, suscita a percepção do tom binaural (KASPRZAK, 2011; CRESPO et al., 2013; CHAIEB et al., 2015).

O pressuposto de que a estimulação com tons binaurais possa modular processos cognitivos e comportamentais implica na hipótese de haver semelhantes efeitos de modulação no padrão da atividade elétrica do cérebro (IOANNOU et al., 2015; KASPRZAK, 2011; PRATT et al., 2010). Lane et al., (1998), por exemplo, descreveram que a estimulação acústica por tons binaurais de 16 ou de 24 Hz pode aumentar o desempenho em tarefas de vigilância e na melhora da auto avaliação do humor.

A estimulação com tons binaurais é uma tecnologia de baixo custo. Basta apenas que os usuários façam uso de serviços online ou de softwares e aplicativos em seus computadores e/ou smartphones, que irão reproduzir as faixas sonoras de modo gratuito.

Sendo assim, considerando o potencial aplicado dessa estimulação em quadros clínicos que possuem marcadores fisiológicos bem estabelecidos na atividade cortical, como a epilepsia, transtornos de humor, ansiedade generalizada e déficit de atenção e hiperatividade a busca por abordagens terapêuticas que utilizam tons binaurais é altamente pertinente.

2.8 Eletroencefalografia e Densidade de corrente cortical pela ferramenta Loreta

O Eletroencefalograma (EEG) é uma das ferramentas mais frequentemente utilizadas para estudar o cérebro humano. Esta é capaz de captar o potencial elétrico neural, através de eletrodos posicionados no escalpo. O EEG é uma técnica não-invasiva, indolor, de gravação da atividade elétrica, e portanto, ajusta-se de maneira ideal a aplicação clínica de diversos transtornos neurológicos e investigação em pesquisas experimentais (SIULY et al., 2016).

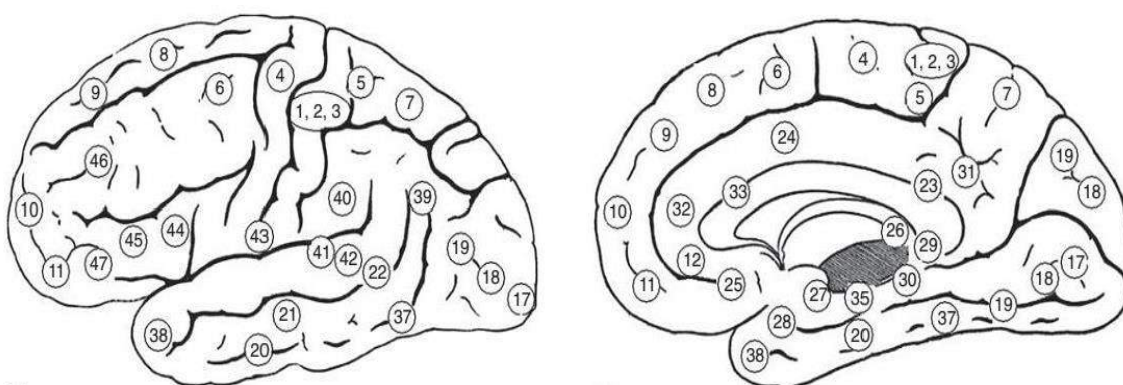
Os sinais elétricos captados pelo EEG são o resultado da ativação neuronal gerada pelas mudanças no potencial da membrana das células nervosas (GOMES, 2015). Logo, são os potenciais pós-sinápticos, excitatórios e inibitórios que, devido às suas propriedades de propagação através dos circuitos neuronais e de localização à

superfície cortical, se somam e tornam-se detectáveis através do registro EEG (GOMES, 2015).

As oscilações de potenciais registradas no escalpo ocorrem devido a essa somação espacial da densidade de corrente dos potenciais pós-sinápticos sincronizados de centenas de milhares de neurônios. Portanto, a somação da atividade pós-sináptica envolve tanto mecanismos de sincronização de oscilações local – entre neurônios próximos, agrupados – quanto de larga escala – entre conjuntos de neurônios de regiões espacialmente afastadas. Tal mecanismo compõe o principal componente de todas as comunicações dos mais diversos circuitos neurais relacionados a todos os processos neurais (CACIOPPO; TASSINARY; BERNTSON, 2007).

O córtex é dividido em dois hemisférios, direito e esquerdo, aos quais se dividem cinco lobos: frontal, temporal, parietal, occipital e ínsula. Tais regiões do cérebro de acordo com sua funcionalidade foram estudas pelo anatomista alemão Korbinian Brodmann em 1909, que as classificou em 52 áreas, as chamadas áreas de Brodmann (em inglês, Brodmann's Area – BA), figura 1 (KROPOTOV, 2010).

Figura 1 - Áreas de Brodmann



Fonte: Kropotov (2010)

O EEG, comparado a outras técnicas de Neuroimagem, possui a vantagem de registrar sinais com alta resolução temporal, no entanto, estes sinais possuem amplitude muito baixa, o que facilita a aparição de ruídos. O sistema para posicionamento dos eletrodos de EEG no escalpo ficou conhecido como o Sistema

Internacional 10-20 de posicionamento de eletrodos (KROPOTOV, 2010). Com base nessa distribuição, os eletrodos são identificados por uma letra que representa o lobo espacialmente correlacionado a posição do eletrodo e um número que identifica a sua localização hemisférica (SIULY; LI; ZHANG, 2017).

Logo, a soma das atividades sinápticas exibem padrões de frequência e amplitude durante a ativação neural, gerando ritmos de ondas cerebrais que podem se relacionam com estados cognitivos, comportamentais e/ou patológicos (BEAR; CONNORS; PARADISO, 2008) como por exemplo: a epilepsia. Durante muito tempo o EEG foi tradicionalmente utilizado na clínica para diagnóstico de epilepsia, por apresentar um padrão clássico de espículas relacionadas à crise, que diferem da atividade basal do EEG (NIEDERMEYER E. 2001). Sendo assim, a análise das ondas cerebrais do EEG podem fornecer informações sobre a atividade de circuitos específicos, quanto da atividade neural generalizada, ou de como está se comportando a comunicação cerebral de uma pessoa (HUANG; CHARYTON, 2008).

Com o EEG é possível mensurar a distribuição da voltagem da corrente dos potenciais pós sinápticos nos dendritos apicais de neurônios piramidais do córtex (LOPEZ RINCON; SHIMODA, 2016). O modelo dos potenciais em cada eletrodo a partir de fontes de corrente dentro do cérebro é conhecido como problema direto do EEG, enquanto que a inferência da posição dos geradores de corrente a partir dos potenciais captados nos eletrodos é conhecido como problema inverso do EEG (LOPEZ RINCON; SHIMODA, 2016).

A solução para o problema inverso do EEG se dá em representar a posição e a orientação, em três dimensões, das fontes geradoras do sinal a partir da distribuição dos potenciais captados pelos eletrodos no escalpo (COATANHAY, 2002). A solução do problema inverso do EEG é um método crucial para pesquisas em eletrofisiologia que investigam a atividade espacial e temporal do cérebro, ou seja, as quais tem a proposta de se identificar com exatidão qual área cerebral gerou a fonte da corrente da atividade cerebral, podendo obter um mapa das ativações e interações funcionais entre as áreas do cérebro (LOPEZ RINCON; SHIMODA, 2016).

Pascual-Marqui, Michel e Lehman publicaram em 1994 um método de neuroimagem para localizar a atividade elétrica no cérebro com base nas densidades

de corrente de múltiplos canais do EEG. Essa técnica revolucionária foi denominada tomografia eletromagnética cerebral de baixa resolução (LORETA). Ela permite reconstruir os mapas de corrente elétrica (surgimento e desaparecimento, do inglês, source and sync) e pode ser entendida como uma técnica de neuroimagem e mapeamento cerebral baseada no EEG (SACHS et al., 2000; COBEN et al., 2010).

A análise das bandas de frequência por LORETA pode ser usada para determinar quais regiões do cérebro são ativadas durante diferentes estados ou tarefas mentais, ajudando a determinar se o cérebro está operando de uma maneira elétrica ótima. A precisão desta técnica foi validada por diversos estudos utilizando simultaneamente EEG e ressonância magnética funcional (fMRI) (OLBRICH et al 2009; MOBASCHER et al 2009), inclusive em estudos localizacionais de epilepsia (RULLMANN et al., 2009).

3 HIPÓTESE E JUSTIFICATIVA

Nossa hipótese é que a estimulação acústica binaural não-periódica causará potencial dessincronização dos ritmos de atividade elétrica do cérebro, quantificados por EEG e Loreta, e que terá efeitos de atividade neural diferentes em pacientes com epilepsia refratária e controles saudáveis.

Este trabalho irá contribuir para uma melhor compreensão de uma promissora nova técnica não-farmacológica de neuromodulação com possível aplicação clínica em pacientes com epilepsia, principalmente a refratária.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Essa tese tem como principal objetivo comparar o efeito da EABNP na atividade de densidade de corrente cortical, quantificados por EEG e LORETA, de pacientes com epilepsia refratária e indivíduos saudáveis.

4.2 Objetivos específicos

- Comparar os efeitos do ruído branco e do EABNP na densidade de corrente cortical em indivíduos saudáveis, utilizando LORETA;
- Comparar os efeitos do ruído branco e do EABNP na densidade de corrente cortical em pacientes com epilepsia refratária, utilizando LORETA;
- Comparar os efeitos da EABNP na densidade de corrente cortical em controles saudáveis versus pacientes com epilepsia refratária, utilizando LORETA;

5 MÉTODO

5.1 *Tipo de estudo*

Foi realizada de uma pesquisa do tipo aplicada, experimental, quantitativa descritiva, exploratória e transversal.

5.2 *Local e comitê de ética*

O local foi o Laboratório do Grupo de Neurodinâmica, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados no Comitê de Ética em Pesquisa Humana do Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Pernambuco sob o número de protocolo: 00227418.4.0000.5208.

5.3 *Aspectos éticos*

O estudo foi conduzido respeitando as diretrizes da resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde e a Declaração de Helsinki de 1964. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido –TCLE antes do início da pesquisa. Os voluntários eram informados dos objetivos e procedimentos experimentais, assim como a respeito dos riscos e benefícios, e que poderiam interromper a sessão experimental a qualquer momento, sem a necessidade de maiores explicações. Todos os dados serão armazenados em nuvem de domínio do laboratório de Neurodinâmica um período mínimo de cinco anos.

5.4 *Riscos e benefícios*

Riscos. Quanto à estimulação acústica binaural não-periódica, não há riscos descritos na literatura. Para minimizar a chance de qualquer dano ao paciente, faz-se saber que havendo qualquer alteração ou desconforto por parte do voluntário, o

procedimento foi interrompido e quando necessário, a equipe de saúde estava apta para intervir. Este projeto envolveu pacientes com epilepsia, que poderiam ter crises durante a coleta. Para garantir a segurança dos participantes, a equipe contou com um médico socorrista do SAMU (Dr. Pedro Mello, CRM: 18781), e uma enfermeira (Jennifer Almeida) que estavam a postos para administração de fármaco anticonvulsivante prescrito, se necessário. Em casos extremos de ingresso em estado de mal epilético (status epilepticus), a equipe estava treinada para os primeiros socorros, e o paciente poderia ser conduzido para serviço de emergência. Houve também os riscos de constrangimento ao responder aos questionários (demográfico, histórico de epilepsia e efeitos adversos da estimulação sonora). Os riscos foram contornados através da aplicação dos questionários em local reservado.

Benefícios. Esta pesquisa traz a oportunidade de realizar exames de eletroencefalograma nos participantes, e quaisquer anormalidades foram prontamente encaminhadas para o Setor de Neurologia do Hospital das Clínicas da UFPE. A pesquisa caracterizou uma nova forma de intervenção não-farmacológica em pacientes com epilepsia refratários aos tratamentos atuais. Caso a estimulação sonora demonstre comprovada eficácia, ela será fornecida ao paciente para continuar beneficiando-se mesmo após o término da pesquisa. Houve também benefícios à comunidade científica sobre o conhecimento a respeito da estimulação acústica binaural não-periódica e novas formas de tratamento não farmacológicas para epilepsia. Sobre tudo os benefícios clínicos aos pacientes, uma vez que testou uma nova abordagem anticonvulsivante. Aos voluntários, não houve qualquer tipo de pagamento ou premiação pela sua participação no estudo.

5.5 Participantes e cálculo amostral

Os participantes com epilepsia refratária foram recrutados do Ambulatório de Neurologia do Hospital das Clínicas de Pernambuco HC/UFPE e através de eventos de divulgação via ASCOM/UFPE. O número total de participantes desta pesquisa foi de 50, sendo 20 controles saudáveis e 30 pacientes com epilepsia refratária. Ambos os grupos tinham faixa etária entre 18 e 35 anos, de ambos os sexos. Os participantes

do grupo controle saudáveis foram recrutados por conveniência na Universidade Federal de Pernambuco.

Estudos quantitativos de Eletroencefalografia demonstram que em geral a incidência mundial de portadores de epilepsia a literatura gira em torno de 4% (FIEST et al., 2017). Porém, estudos semelhantes realizados pelo nosso laboratório (LUCENA, 2018; ALBUQUERQUE, 2019) conduzidos no HC, demonstraram que o número médio de pacientes com epilepsia refratária atendidos por ano no setor é de 35. Desta forma, usando o software (Easy Sample Size Project®), assumindo um erro amostral de 5% ($p < 0,05$) e 90% de intervalo de confiança, foi estabelecido que o n para os pacientes com epilepsia refratária seria de 30.

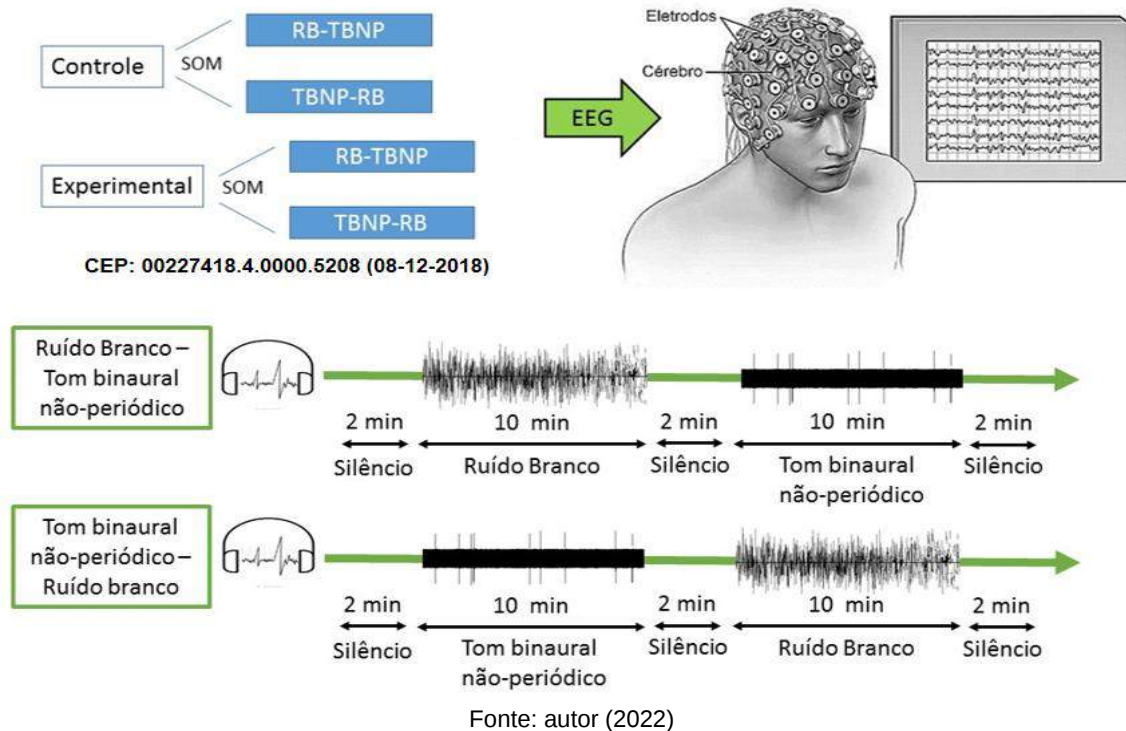
5.6 Avaliação do Eletroencefalograma

Para aquisição dos dados eletrográficos foi usado o amplificador g.Hlamp-RESEARCH de 64 canais, G.TEC MEDICAL ENGINEERING GMBH, AUSTRIA, com taxa de amostragem de 254 Hz, filtro passa alta 0,5 Hz.

Após lerem e assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, os participantes foram acomodados confortavelmente em cadeiras em sala climatizada e silenciosa. A touca de registro de EEG foi posicionada, conforme o sistema 10-10 (JURCAK et al., 2007). Em seguida, após os devidos ajustes na touca, foi injetado gel de EEG em cada sítio de eletrodos para ajuste da impedância entre cada eletrodo e referência até $< 5 K\Omega$.

A avaliação do EEG e estimulação acústica, foi realizada com os voluntários em estado de vigília e com duração média de 40 minutos, conforme esquema ilustrativo (figura 2).

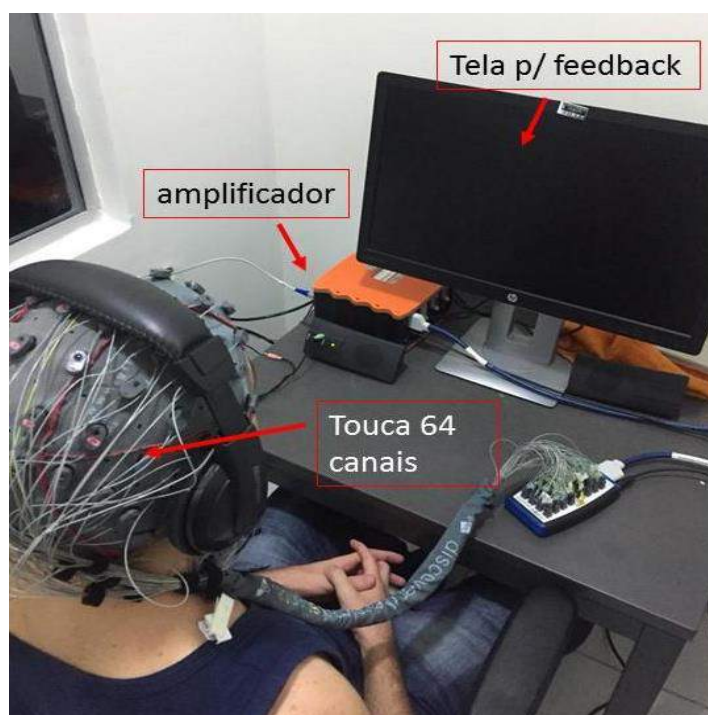
Figura 2 - Desenho experimental do protocolo de aquisição de EEG e da divisão dos pacientes em ouvir RB ou EABNP



O protocolo iniciou com os voluntários acordados, onde permaneceram por 2 minutos com os olhos abertos, em relaxamento, para aquisição de um registro basal (registro basal pré-estimulação).

Posteriormente, o voluntário recebeu fones de ouvido ajustados (imagem 1), e iniciará a estimulação correta (som EABNP ou ruído branco, conforme randomização e conforme a figura ilustrativa 1), registrando-se por 10 minutos cada estimulação. E por fim, o estímulo foi desligado, e outro registro de 2 minutos foi coletado (registro pós-estimulação). Tal divisão foi necessária para minimizar os efeitos cumulativos cerebrais de escutar primeiro RB ou EBNP, e vice e versa.

Imagem 1 - Setup do sistema de eletroencefalograma de 64 canais do laboratório do Grupo de Neurodinâmica¹



Fonte: autor (2022)

Utilizamos um modelo de fone de ouvido supra auricular, que recobre a parte externa do ouvido, com suporte e ajustes para a faixa da cabeça e nas conchas acústicas favorecendo um encaixe confortável. O modelo apresenta design fechado para bloquear o ruído externo, criando uma condição de sonoridade mais controlada. O aparelho responde à sons com frequência entre 19 – 21.000 Hz, possui impedância de 24 Ohms e sensibilidade de volume para até 108 dB, conforme fabricante.

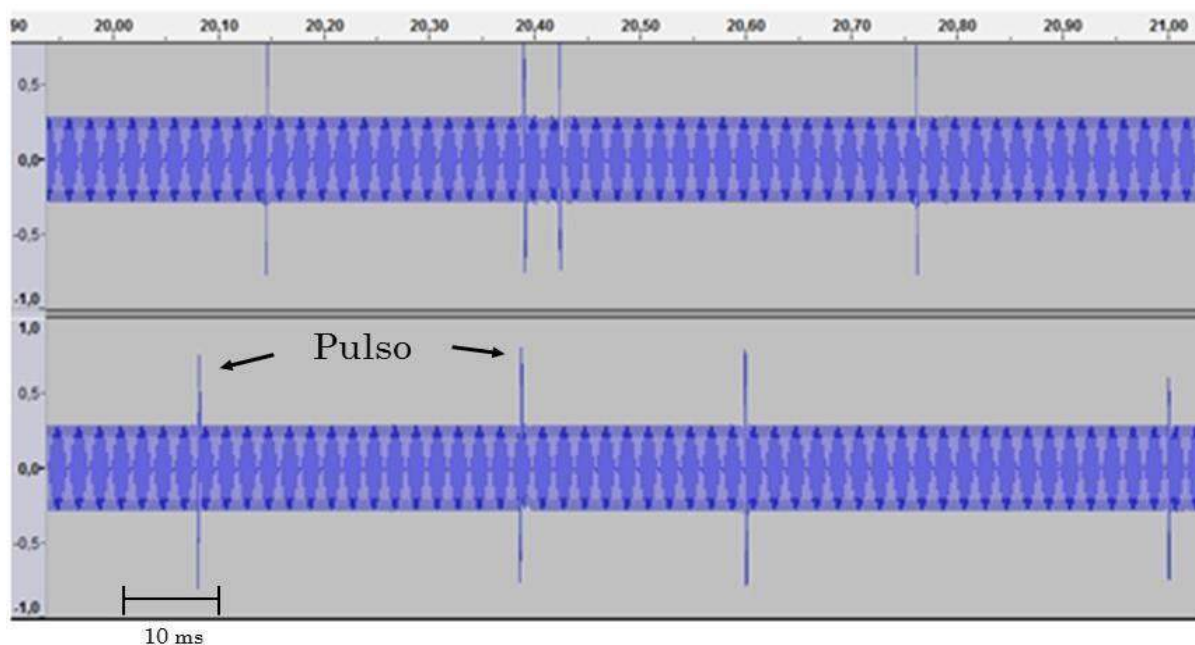
¹ Legenda: situado no Depto de fisiologia e farmacologia – Centro de Ciências da Saúde – UFPE.

5.7 Estimulação Acústica Binaural Não-Periódica e Ruído Branco

Em nosso laboratório com o uso dos programas computacionais Matlab® 2015 e Audacity 2.0, criamos e patenteamos, sob o número de protocolo no INPI BR 10 2019 009701 9, uma frequência base de 400 Hz interrompidos aleatoriamente por eventos rápidos (4 pulsos por segundo), de 420 Hz, com duração de 50 microssegundos cada um.

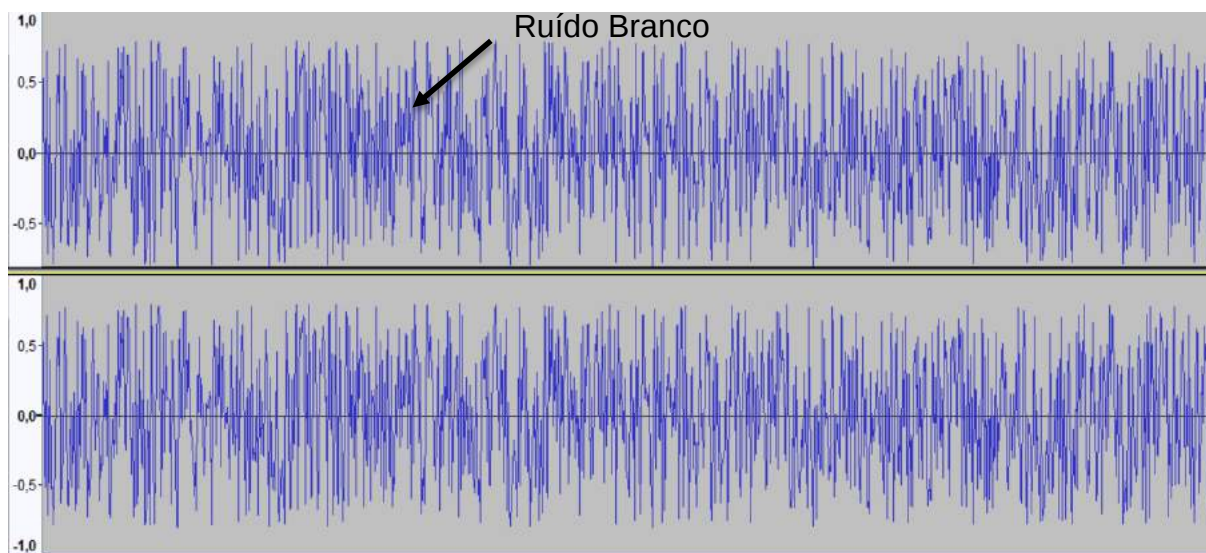
A cada segundo o intervalo entre os pulsos é aleatório, mas sempre garantindo a proporção de 4 pulsos por segundo (figura 3). Este som foi chamado de estimulação acústica binaural não-periódica. O som aplicado em uma orelha é dessincronizado em relação à outra. Para estimulação acústica de ruído branco, este tipo de som foi aplicado a ambas as orelhas, por ruído branco (figura 4) padrão com variação de frequência de 20 a 20.000 Hz.

Figura 3 - Estimulação acústica binaural não-periódica²



Fonte: autor (2022)

² Legenda: trecho de 1 segundo, demonstrando a forma aleatória de intervalos de pulsos (setas).

Figura 4 - Ruído branco³

Fonte: autor (2022)

5.8 Análises da atividade de densidade de corrente cortical do eletroencefalograma pela ferramenta Loreta

Após o término da coleta dos dados do EEG, todos os dados foram inicialmente analisados com a ferramenta Matlab® (The MathWorks, Inc., Natick, USA, 2015) e convertidos em formato .txt para visualizar as fontes elétricas intracerebrais geradoras de corrente cortical da atividade do EEG.

Foi usado o pacote de software padronizado para tomografia eletromagnética cerebral de baixa resolução (sLORETA) (PASCUAL-MARQUI, 2002), disponível em: [http://www.uzh.ch/keyinst/loreta .htm](http://www.uzh.ch/keyinst/loreta.htm)).

O LORETA é baseado em algoritmos que resolvem a solução ao problema inverso do sinal do EEG, viabilizando a identificação de fontes geradoras da matriz espectral das ondas elétricas registrados no escalpo (CANNON, 2009; 2012).

³ Legenda: trecho de 1 segundo, demonstrando a de variação de todas as frequências na constante do tempo.

Este procedimento computa, a partir das diferenças de potencial elétrico registrados no escalpo a distribuição em três dimensões dos geradores neuronais eletricamente ativos como um valor de densidade de corrente (A/m²) pra cada voxel (ESSLEN, 2004). A representação probabilística das fontes do sinal empregam uma montagem modelo da matéria cinzenta cortical do atlas da Montreal Neurological Institute (MNI) formado por 6239 voxels de 5mm de resolução (COBEN; MOHAMMAD- REZAZADEH; CANNON, 2014).

Os efeitos da estimulação acústica no LORETA foram obtidos para ambas as condições experimentais (EABNP ou ruído branco) e a diferença na densidade de corrente comparados entre os grupos com mapeamento não paramétrico estatístico t-student dentro do próprio software. O nível de significância estatística é de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

A figura 5 mostra a análise da atividade da densidade de corrente elétrica cerebral pela ferramenta LORETA de cérebros de indivíduos controle saudáveis. A primeira linha da figura 5 (Fig. 5A) representa a comparação entre o efeito do ruído branco em relação ao período da linha de base (silêncio).

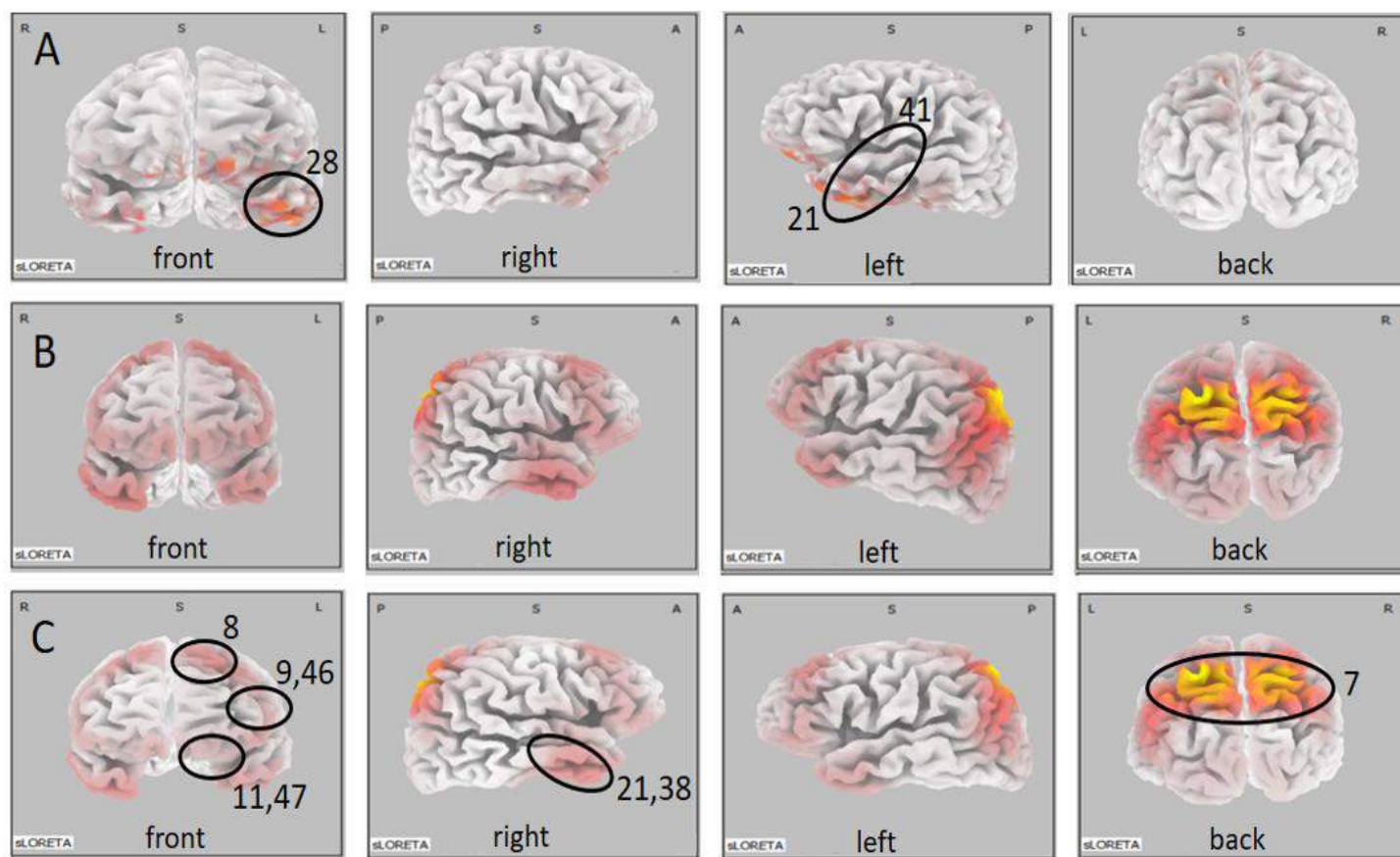
O ruído branco ativa prioritariamente o córtex auditivo primário (Fig. 5A esquerda, BA 41). Além disso, uncus (BA 28) e giro temporal médio (BA 21) são ativados por essa condição. A segunda linha (Fig. 5B) representa o efeito do EABNP comparado ao período da linha de base (silêncio).

A terceira linha (Fig. 5C) representa o período em que o voluntário ouviu o EABNP comparado ao ruído branco. As figuras 6B e 6C são muito semelhantes e as principais áreas ativadas são mostradas em ambas, diferindo muito do ruído branco (Fig. 5A). Quando os voluntários ouviram o EABNP, foi encontrada uma resposta diferente. Quando comparado ao ruído branco (Fig. 5C), o EABNP causou predominantemente a ativação do córtex parietal (BA 7, Fig. 5C anterior).

Houve também atividades nas áreas temporais média e inferior (BA 21 e 38, respectivamente, Fig. 5C, à direita). Entretanto, não houve ativação significativa do BA 41, área auditiva primária temporariamente superior, nem quando comparado ao EABNP basal (Fig. 5B à esquerda) nem ao EABNP comparado ao ruído branco (Fig. 6C à esquerda). Na Fig. 5C, também existem atividades principais no córtex frontal, no BA 11 (frontal inferior, medial), 47 (frontal inferior, pars orbitalis), 46 (área frontal média, córtex pré-frontal dorsolateral, DLPFC), 9 (dorsolateral e córtex frontal médio) e 8 (córtex frontal e campo ocular frontal).

Essas áreas frontais formam um "halo", excluindo o córtex pré-frontal frontopolar (BA 10) e internamente o cíngulo dorsal anterior (BA32).

Figura 5 - Áreas corticais ativadas por ruído branco e EABNP em cérebros controles saudáveis⁴



Fonte: autor (2022)

⁴ Legenda: linha A: comparação entre ruído branco e período basal (silêncio). Vista frontal: BA 28 (X = 20; Y = 5; Z = -35). Vista esquerda: BA 21 e 41 (X = 55; Y = 5; Z = -35 e X = 39; Y = -33; Z = 11, respectivamente). Linha B: comparação entre EABNP e período basal (silêncio). Linha C: comparação entre EABNP e ruído branco. Vista frontal: BA 8 (X = -15; Y = 50; Z = 45); BA 9 (X = -35; Y = 40; Z = 40); BA 11 (X = -45; Y = 45; Z = -15); BA 46 (X = -45; Y = 45; Z = 20); BA 47 (X = 55; Y = 35; Z = 0); Vista direita: BA 21 (X = -55; Y = 5; Z = -35); BA 38 (X = 40; Y = 10; Z = 45); Vista traseira: BA 7 (X = -25; Y = -65; Z = 65). Todas as imagens tem significância estatística de $p < 0,05$. 21 (X = -55; Y = 5; Z = -35); BA 20 (X = 40; Y = 10; Z = 45); Vista traseira: BA 7 (X = -25; Y = -65; Z = 65). Todas as imagens tem significância estatística de $p < 0,05$.

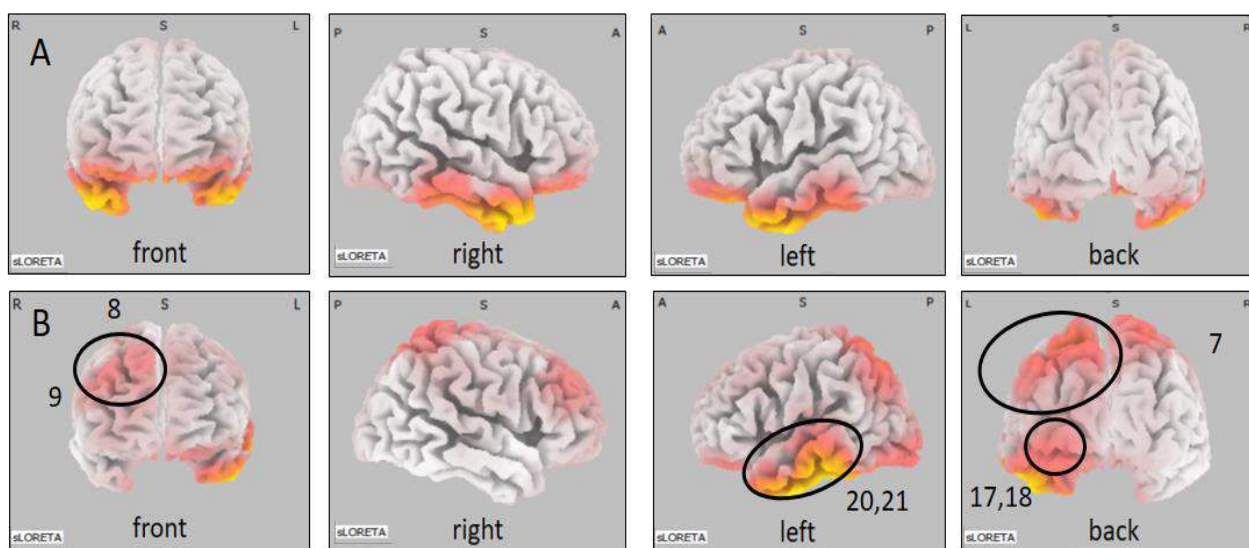
A figura 6 mostra a análise da atividade da densidade de corrente elétrica cerebral pela ferramenta LORETA de cérebros de pacientes com epilepsia refratária.

A primeira linha da figura 6 representa a comparação entre o efeito do ruído branco em relação ao período da linha de base (silêncio). O ruído branco ativa o giro temporal médio (Fig. 6A, BA 20). Além disso, o córtex órbito-frontal bilateral é ativado pelo ruído branco (Fig. 6A, BA 11).

A segunda linha da figura 6 representa o período em que o paciente ouviu o EABNP comparado ao ruído branco. Quando os pacientes ouviram o EABNP, foi encontrada uma resposta diferente. O EABNP causou predominantemente a ativação do córtex parietal esquerdo (BA 6, Fig. 6B). Houve também atividades nas áreas temporais média e inferior (BA 21 e 20, respectivamente, Fig. 6B).

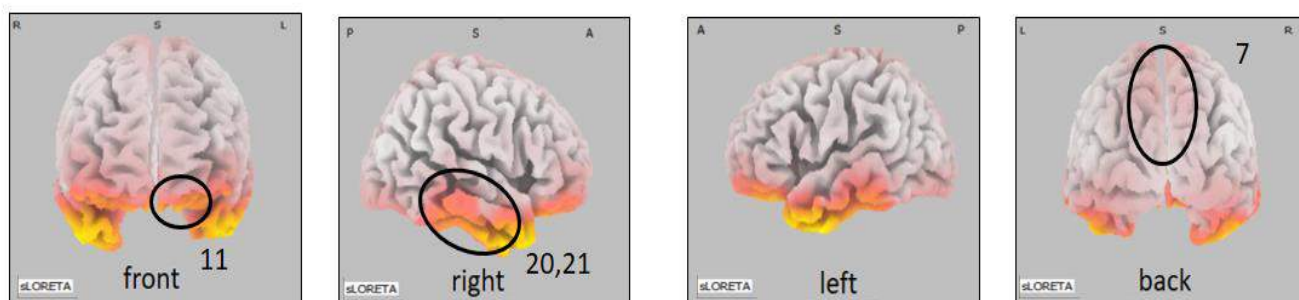
Entretanto, não houve diferença na ativação significativa do BA 11, córtex órbito frontal quando comparamos ruído branco e EABNP. Na segunda linha figura 6, também existem atividades cerebrais assimétricas nas áreas frontais BA 9 (dorsolateral e córtex frontal médio) e BA 8 (córtex frontal e campo ocular frontal). Existe também significativa atividade cerebral nas BA 17 e 18, giro occipital inferior, figura 6 B, posterior.

Figura 6 - Áreas corticais ativadas por ruído branco e EABNP em pacientes com epilepsia refratária⁵



A figura 7 mostra a análise da comparação da densidade de corrente elétrica atividade de corrente cerebral pela ferramenta LORETA de cérebros de pacientes com epilepsia refratária versus controles saudáveis durante a EABNP. A EABNP demonstrou diferença significativa na atividade da atividade das áreas do córtex orbito-frontal (BA 11 Fig. 7 frontal) e predominantemente a ativação do parietal (BA 7, Fig. 7 posterior) nos cérebros de pacientes com epilepsia refratária quando comparado com cérebros controle. Houve também atividades nas áreas temporais média e inferior (BA 21 e 20, respectivamente, Fig. 7, direita)

Figura 7 - Áreas corticais ativadas por EABNP em cérebros controle saudáveis comparados a cérebros de pacientes com epilepsia refratária⁶



Fonte: autor (2022)

⁵ Legenda: linha A: comparação entre ruído branco e período basal (silêncio). Vista frontal: BA 11 (X = -45; Y = 45; Z = -15). Vista direita: BA 20 (X = 55; Y = 5; Z = -35). Linha B: comparação entre EABNP e ruído branco. Vista frontal: BA 8 (X = -15; Y = 50; Z = 45); BA 9 (X = -35; Y = 40; Z = 40); Todas as imagens tem significância estatística de $p < 0,05$.

⁶ Legenda Vista frontal: BA 11 (X = -45; Y = 45; Z = -15). Vista esquerda: BA 20 (X = 55; Y = 5; Z = -35) e BA 21 (X = -55; Y = 5; Z = -35) Vista traseira: BA 7 (X = -25; Y = -65; Z = 65). Todas as imagens tem significância estatística de $p < 0,05$.

7 DISCUSSÃO

Implementamos a primeira pesquisa com direcionamento em elucidar as lacunas acerca do mecanismo eletrofisiológico e de mecanismo de ação de uma promissora e não farmacológica técnica de estimulação binaural acústica não periódica com potenciais efeitos anticonvulsivantes em pacientes com epilepsia refratária.

Verificamos que em relação a densidade de corrente cortical pela ferramenta LORETA, que reflete a atividade cerebral, as áreas cerebrais ativadas pela EABNP nos pacientes com epilepsia são muito semelhantes (mas não idênticas) a essas áreas da rede de modo padrão (em inglês, *default mode network* (DMN)). Uma exceção é a ausência de ativação do BA 10 e 32 (córtex cingulado frontopolar e anterior).

Durante várias décadas diversas pesquisas com imagens funcional do cérebro em repouso foram realizadas se identificar como estaria a atividade cerebral durante processos psicológicos como percepção, atenção, linguagem, memória, emoção, entre outras funções (BUCKNER; ANDREWS-HANNA; SCHACTER, 2008). Análises da atividade cerebral em repouso foram adquiridas nessas pesquisas para comparação com condições controles que envolviam tarefas cognitivas. Entretanto foi quase que ao acaso que os pesquisadores registraram que muitas regiões do cérebro mantinham-se mais ativas durante o repouso do que durante as tarefas cognitivas pois, ao implementarem o procedimento de subtração de imagens obtidas através da Tomografia por Emissão de Pósitrons (TEP), verificavam a diminuição da atividade em regiões específicas do cérebro em comparação com as imagens obtidas em condição de repouso (BUCKNER; ANDREWS-HANNA; SCHACTER, 2008).

David Ingvar em 1979, foi o primeiro pesquisador a examinar imagens do fluxo sanguíneo no cérebro na condição de repouso (BUCKNER; ANDREWS-HANNA; SCHACTER, 2008). Ele constatou que a distribuição do fluxo sanguíneo na região frontal do cérebro, apresentou atividade hemodinâmica significativamente maior do que nas regiões pós- central, occipital e temporal.

A primeira descrição da diminuição de atividade cerebral induzida por tarefa foi documentada por uma meta-análise com imagens obtidas através da TEP acerca do processamento visual em seres humanos (SHULMAN et al., 1997). Este estudo gerou uma série de imagens cuja identificação foi amplamente confirmada em estudos posteriores (RAICHLE; SNYDER, 2007).

Independente da tarefa ou evento em análise, o padrão de atividade cerebral quase sempre diminui em regiões específicas ao longo da linha média frontal posterior, em comparação ao padrão de atividade durante o desempenho de tarefas (BUCKNER; ANDREWS-HANNA; SCHACTER, 2008).

A descoberta de uma rede de áreas cerebrais que diminuem sua atividade durante tarefas com objetivos específicos, surpreendeu e desafiou o conhecimento científico (RAICHLE; SNYDER, 2007). As áreas envolvidas até então não haviam sido reconhecidas como um sistema de circuito neuronal, tal qual os sistemas sensoriais ou motores por exemplo (RAICHLE; SNYDER, 2007). Raichle et al., (2001) deu seguimento a discussão ao sugerirem que as diminuições no fluxo sanguíneo cerebral local que se relaciona a essas diminuições da atividade cerebral em regiões específicas, indicavam a existência de conectividade funcional basal do cérebro em uma rede em modo padrão.

Essa compreensão resultou no que chamamos hoje de DMN, para caracterizar esta conectividade funcional entre circuitos neuronais ativos no estado de repouso e que tem como principais estruturas, o cíngulo posterior, precúneo e o córtex pré-frontal medial (RAICHLE et al., 2001; BUCKNER; ANDREWS-HANNA; SCHACTER, 2008).

Nos resultados do LORETA, diferentemente do ruído branco, o EABNP foi capaz de ativar os lobos: parietal, temporal e frontal. Isso ocorreu tanto nos controles quanto nos pacientes com epilepsia. Entretanto nos pacientes, o EABNP teve um efeito ligeiramente diferente. Enquanto os controles geralmente respondem ao EABNP com ativação bilateral, ou seja em ambos os hemisférios, os pacientes têm tendência à assimetria e unilateralidade.

Uma interpretação possível é que as propriedades intrínsecas de conectividade fazem o cérebro epilético responder de forma diferente ao EABNP, em comparação

com um cérebro saudável. A DMN representa áreas que são ativas em situações de repouso cerebral e são desativadas quando uma determinada tarefa emocional ou cognitiva é realizada (RAICHLE & SNYDER, 2007; HWANG et al., 2016; RAICHLE, 2015). Sabe-se que o DMN está alterada em vários distúrbios cerebrais e principalmente na epilepsia (LUO et al., 2011). Pacientes com epilepsia possuem a DMN com pouca atividade (GOTMAN et al., 2005; HANEEF et al., 2012; KAY, 2013; JIANG et al., 2018).

Em nosso estudo, muitos pacientes descreveram sensação de calma, às vezes sonolência após ouvir o EABNP (também ocorreu nas crianças com microcefalia que possuíam epilepsia como morbidade associada), enquanto os controles descreveram o mesmo para o ruído branco, e não o EABNP. É importante notar que EABNP não induziu ondas lentas e sono no EEG, ou pelo menos isso não foi detectado visualmente. Mas, quando comparadas as estruturas clássicas do DMN e as áreas cerebrais ativadas pelo EABNP, apesar de alguma sobreposição, elas não são idênticas.

O polo frontal (BA 10 e 46), por exemplo, não é ativado pelo EABNP (ver Fig. 6C e 6D). O número de participantes dessa pesquisa foi substancial (30 pacientes e 20 controles), e nosso equipamento de EEG de alta qualidade. A ordem alternada de apresentação do ruído branco ou EABNP em controles e pacientes com epilepsia também argumenta contra resultados tendenciosos. Todavia para provar definitivamente que o EABNP está realmente ativando o DMN, ou parte dele, são necessários experimentos específicos.

Portanto fica claro dizer que a DMN representa áreas que são ativas em situações de repouso cerebral e são desativadas quando uma determinada tarefa emocional ou cognitiva é realizada (RAICHLE & SNYDER, 2007; HWANG et al., 2007; HARRISSON et al., 2011; RAICHLE, 2015). Sabe-se que o DMN está alterado em vários distúrbios cerebrais e principalmente na epilepsia (LUO et al., 2011). Pacientes com epilepsia possuem a DMN menos ativo (GOTMAN et al., 2005; HANEEF et al., 2012; Jiang et al., 2018).

Na epilepsia generalizada, uma série de estudos com EEG-fMRI demonstrou um padrão comum de desativação na porção medial, assim como frontal lateral,

parietal superior e posterior do giro cingulado, córtex parietal (ARCHER et al., 2003; GOTMAN et al., 2005; MOELLER et al., 2008; SALEK-HADDADI et al., 2003) Esta rede córtico-subcortical a DMN. As alterações de mudanças de desativação pelo da DMN sugerem que o equilíbrio de ativação e de repouso do cérebro normal é aparentemente perturbado por descargas generalizadas de ponta-onda da epilepsia (LAUFS et al., 2007; LOGOTHETIS, 2008).

Há relatos de alterações na maioria das principais redes de repouso em pacientes com epilepsia do lobo temporal (CATALDI et al., 2013). Em um estudo com 17 pacientes com epilepsia os autores observaram redução da conectividade das áreas da DMN (WAITES et al., 2006).

A EABNP foi desenvolvido com o propósito de antagonizar a hipersincronização dos neurônios na epilepsia e foi capaz de reduzir em resultados preliminares a quantidade de espículas no EEG de pacientes com epilepsia refratária (LUCENA et al., presente edição).

Em nossa opinião, uma hipótese é que o EABNP poderia antagonizar a epilepsia através da competição de circuitos neuronais e dessincronização da atividade epiléptica cerebral. O EABNP, portanto ativou áreas cerebrais que são claramente inibidas em pacientes com epilepsia (neste caso, o DMN), o que seria assim um possível mecanismo de ação do EABNP.

Sendo compatível com a literatura atual, incluindo pesquisas abrangentes do tratamento de pacientes com epilepsia refratária utilizando neurofeedback, que é uma técnica de neuromodulação, com o objetivo de aumentar a atividade da DMN, com efeitos anticonvulsivantes (FREY & KOBERDA, 2015).

Aparentemente, o efeito do EABNP sobre a atividade cerebral, não é o mesmo que uma estimulação acústica comum (ruído branco) e não ativou o córtex auditivo primário com a mesma significância. Acreditamos que a EABNP interfere nas vias do circuito auditivo, nos núcleos do tronco encefálico (corpo trapezoidal, oliva superior e lemnisco lateral) (MASTERTON et al., 1967).

As projeções aferentes da via auditiva, que transmitem e processam as informações sonoras ao longo do ouvido interno até o córtex auditivo primário, ligam núcleos que formam circuitos acerca de todas as divisões do cérebro: bulbo, ponte,

mesencéfalo e córtex cerebral. Sendo assim, o sistema auditivo possui diversas etapas para o processamento da informação do sonora até a sua tomada consciente.

No bulbo, as fibras aferentes inervam os núcleos cocleares em 3 divisões anatômicas – dorsal, anteroventral e posteroventral – cada uma possui aspecto funcional diferente do processamento da informação auditiva (SIEGEL; SAPRU, 2015). Dois conjuntos de fibras de neurônios, partem dos núcleos cocleares e projetam axônios para divisões superiores do sistema nervoso central.

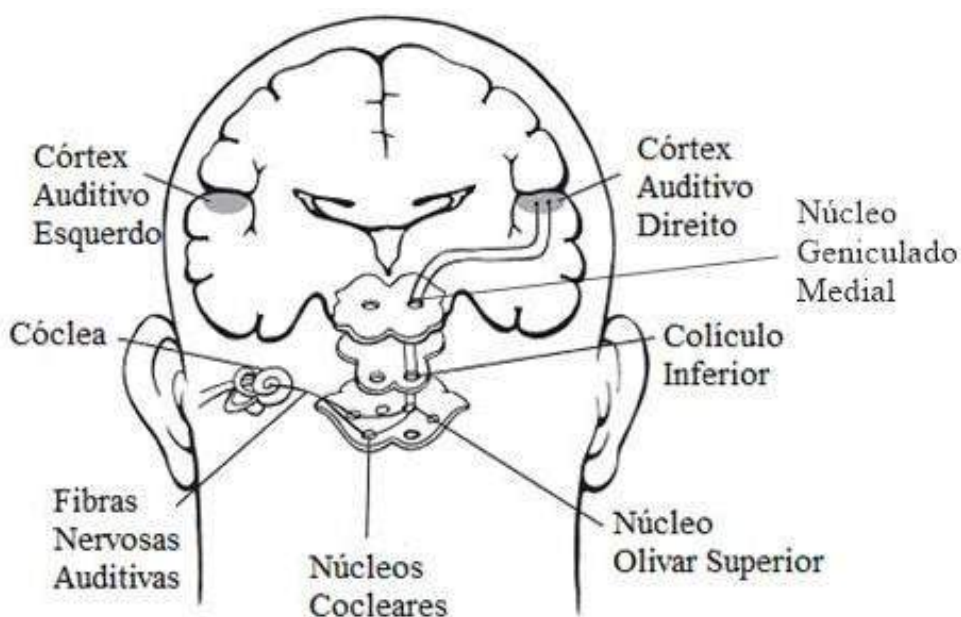
A primeira faz conexão no complexo olivar superior, estágio sináptico da divisão pontina. Este núcleo tem como principal função fazer a localização espacial do som devido a capacidade de discriminação da diferença entre o intervalo temporal e das diferenças de amplitude do estímulo sonoro em cada ouvido, portanto participa ativamente da comparação da EABNP. O segundo conjunto de fibras atravessam a ponte sem fazer sinapses até atingirem o colículo inferior, no mesencéfalo (SIEGEL; SAPRU, 2015; LENT, 2004).

Do complexo olivar superior surgem duas vias, uma é um feixe de axônios aferentes que também atravessa o tronco encefálico até o colículo inferior. A outra é eferente, que realiza o percurso inverso do nervo auditivo até alcançar a membrana basilar da cóclea. Ao colículo inferior convergem todas as fibras aferentes de ordens inferiores da via auditiva, sendo que na porção dorsal deste núcleo, projetam-se as fibras dos neurônios que respondem a baixas frequências sonoras, enquanto que a porção ventral, projetam-se as fibras dos neurônios que respondem a altas frequências. Este núcleo também está dividido em três regiões anatômicas: o núcleo central, o núcleo externo e o córtex dorsal (SIEGEL; SAPRU, 2015; LENT, 2004).

No colículo inferior fibras nervosas permitem o cruzamento bilateral de informações, o que é muito importante para que as fibras projetadas do núcleo central até o tálamo auditivo enviem informações de ambas entradas sensoriais. Fazendo assim que núcleo externo e o córtex dorsal possam, através de projeções com outras regiões do próprio mesencéfalo, encarregarem-se dos reflexos audiomotores que possibilitam a orientação do corpo humano em correspondência

a localização dos sons ouvidos (SIEGEL; SAPRU, 2015; BALDWIN, 2012; LENT, 2010). Abaixo na figura 8, o esquema demonstra a localização dos principais núcleos de processamento na via auditiva.

Figura 8 – Núcleos de processamento neural da via auditiva central



Fonte: Adaptado de Baldwin (2012)

A área 41 de Brodmann corresponde ao córtex auditivo primário. A área 42 apesar de também receber projeções direta do núcleo geniculado medial, é considerada como o córtex auditivo secundário (GAZZANIGA; IVRY; MANGUN, 2006).

No córtex a informação de processamento auditivo dar-se ao longo de duas principais vias. Ambas as vias iniciam-se em áreas corticais auditivas adjacentes a área 41 e projetam-se para regiões distintas do lobo frontal. Tais vias de processamento auditivo cortical são conhecidas por via dorsal e via ventral (BALDWIN, 2012). A via dorsal tem sido relacionada ao processamento de informações espaciais e, conseqüentemente, localização sonora. A via ventral

aparenta estar relacionada a função de reconhecimento dos estímulos auditivos (BALDWIN, 2012).

Desta forma, uma das funções principais do córtex auditivo é associar as informações sonoras e processar em timbres e padrões temporais característicos à estimulação acústica (LENT, 2010), portanto participando diretamente do processamento neural relacionado a EABNP.

Portanto a literatura já deixa claro que esses núcleos realizam uma comparação momento a momento entre o sinal acústico que chega a cada ouvido para a localização da fonte sonora. Entretanto, ao tentar comparar sinais dessincronizados, como é o caso da EABNP, isso pode implicar em um fenômeno de parada, dessincronizando a via auditiva do tronco cerebral para diferentes áreas corticais, tais como parietal e frontal.

Podendo então estar relacionado com o possível efeito anticonvulsivante da EABNP nos pacientes com epilepsia refratária, novas pesquisas com o objetivo clínico precisam serem desenvolvidas, agora para quantificar a mudança clínica crônica de bloqueios de crises nos pacientes que usam a EABNP, o quais também aumentarão a compreensão do efeito do EABNP.

No entanto, o Grupo de Neurodinâmica não descarta o fato de que o mecanismo de ação anticonvulsivante do EABNP esteja relacionado à ativação pelo menos parcial de áreas que controlam e regulam a DMN.

7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho fazem parte de um grande avanço técnico e científico para as pesquisas e políticas públicas voltadas para as pessoas com epilepsia refratária. A EABNP demonstrou em análises com a ferramenta sLoreta, gerar maior atividade de corrente cortical em áreas do córtex parietal, temporal e pré-frontal, relacionadas a atividade da DMN, quando comparada ao ruído branco. Em controles saudáveis a EABNP demonstrou efeito diferente do grupo experimental, no grupo controle foi possível observar a atividade de áreas do córtex temporal e parietal, associadas ao processamento auditivo. Associados a dados clínicos preliminares, ainda não publicados, a EABNP demonstrou possível efeito anticonvulsivante analisado pelo EEG de pacientes com epilepsia refratária, esta tese, é um complemento do possível mecanismo de bloqueio neurofisiológico da EABNP. Apesar dos dados preliminares clínicos e neurofisiológicos da EABNP serem empolgantes, novos estudos precisam ser feitos para aumentar a escala de dados clínicos e eletrofisiológicos e assim contribuir para avanços terapêuticos voltados para as pessoas com epilepsia.

REFERÊNCIAS

- ANDERSOHN, Frank et al., Use of antiepileptic drugs in epilepsy and the risk of self-harm or suicidal behavior. **Neurology**, v. 75, n. 4, p. 335-340, 2010.
- ARCHER, John S. et al., Benign epilepsy with centro-temporal spikes: Spike triggered fMRI shows somato-sensory cortex activity. **Epilepsia**, v. 44, n. 2, p. 200-204, 2003.
- BALDWIN, Carryl L. **Auditory cognition and human performance: Research and applications**. CRC Press, 2012.
- BARTOLOMEI, Fabrice et al., How does vagal nerve stimulation (VNS) change EEG brain functional connectivity?. **Epilepsy research**, v. 126, p. 141-146, 2016.
- BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. Neurociências: passado, presente e futuro. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso. Porto alegre, Artmed**, v. 3, 2008.
- BEGHI, Ettore; GIUSSANI, Giorgia. Aging and the epidemiology of epilepsy. **Neuroepidemiology**, v. 51, n. 3-4, p. 216-223, 2018.
- BUCKNER, Randy L.; ANDREWS-HANNA, Jessica R.; SCHACTER, Daniel L. The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. 2008.
- CACIOPPO, John T.; TASSINARY, Louis G.; BERNTSON, Gary (Ed.). **Handbook of psychophysiology**. Cambridge university press, 2007.
- CANNON, Rex et al., Differentiating a network of executive attention: LORETA neurofeedback in anterior cingulate and dorsolateral prefrontal cortices. **International Journal of Neuroscience**, v. 119, n. 3, p. 404-441, 2009.
- CANNON, Rex L. LORETA neurofeedback: Odd reports, observations, and findings associated with spatial specific neurofeedback training. **Journal of Neurotherapy**, v. 16, n. 2, p. 164-167, 2012.
- CARVALHO, Vinícius Rezende et al., Active probing to highlight approaching transitions to ictal states in coupled neural mass models. **PLoS computational biology**, v. 17, n. 1, p. e1008377, 2021.
- CATALDI, Mauro; AVOLI, Massimo; DE VILLERS-SIDANI, Etienne. Resting state networks in temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v. 54, n. 12, p. 2048-2059, 2013.
- CHAI EB, Leila et al., Auditory beat stimulation and its effects on cognition and mood states. **Frontiers in psychiatry**, v. 6, p. 70, 2015.
- COATANHAY, Arnaud et al., EEG source identification: frequency analysis during sleep. **Comptes rendus biologiques**, v. 325, n. 4, p. 273-282, 2002.

COBEN, Robert et al., Connectivity-guided EEG biofeedback for autism spectrum disorder: evidence of neurophysiological changes. **NeuroRegulation**, v. 1, n. 2, p. 109-109, 2014.

COBEN, Robert et al., Using quantitative and analytic EEG methods in the understanding of connectivity in autism spectrum disorders: a theory of mixed over- and under-connectivity. **Frontiers in human neuroscience**, v. 8, p. 45, 2014.

COLZATO, Lorenza S. et al., More attentional focusing through binaural beats: Evidence from the global–local task. **Psychological Research**, v. 81, n. 1, p. 271-277, 2017.

COTA, Vinícius Rosa et al., Distinct patterns of electrical stimulation of the basolateral amygdala influence pentylenetetrazole seizure outcome. **Epilepsy & Behavior**, v. 14, n. 1, p. 26-31, 2009.

COTA, Vinícius Rosa et al., Nonperiodic stimulation for the treatment of refractory epilepsy: Applications, mechanisms, and novel insights. **Epilepsy & Behavior**, v. 121, p. 106609, 2021.

COTA, Vinicius Rosa et al., The epileptic amygdala: toward the development of a neural prosthesis by temporally coded electrical stimulation. **Journal of neuroscience research**, v. 94, n. 6, p. 463-485, 2016.

CRESPO, Adela et al., Effect of binaural stimulation on attention and EEG. **Archives of Acoustics**, v. 38, n. 4, p. 517–528, 2013.

CUKIERT, Arthur. Vagus nerve stimulation for epilepsy: an evidence-based approach. **Stimulation of the Peripheral Nervous System**, v. 29, p. 39-52, 2016.

DAL-CÓL, Maria Luiza Cleto et al., Is dystonic posturing during temporal lobe epileptic seizures the expression of an endogenous anticonvulsant system?. **Epilepsy & Behavior**, v. 12, n. 1, p. 39-48, 2008.

DE CASTRO MEDEIROS, Daniel et al., Anatomically dependent anticonvulsant properties of temporally-coded electrical stimulation. **Epilepsy & Behavior**, v. 23, n. 3, p. 294-297, 2012.

DE OLIVEIRA, J. C. et al., Seizure suppression by asynchronous non-periodic electrical stimulation of the amygdala is partially mediated by indirect desynchronization from nucleus accumbens. **Epilepsy research**, v. 154, p. 107-115, 2019.

DE OLIVEIRA, Jasiara Carla et al., Temporally unstructured electrical stimulation to the amygdala suppresses behavioral chronic seizures of the pilocarpine animal model. **Epilepsy & Behavior**, v. 36, p. 159-164, 2014.

DELFINO-PEREIRA, Polianna et al., Behavioral and EEGraphic Characterization of the Anticonvulsant Effects of the Predator Odor (TMT) in the Amygdala Rapid Kindling, a Model of Temporal Lobe Epilepsy. **Frontiers in neurology**, v. 11, p. 1372, 2020.

DEVINSKY, Orrin et al., Sudden unexpected death in epilepsy in patients treated with brain-responsive neurostimulation. **Epilepsia**, v. 59, n. 3, p. 555-561, 2018.

DEVINSKY, Orrin et al., Sudden unexpected death in epilepsy: epidemiology, mechanisms, and prevention. **The Lancet Neurology**, v. 15, n. 10, p. 1075-1088, 2016.

DIMASI, Joseph A. Risks in new drug development: approval success rates for investigational drugs. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 69, n. 5, p. 297-307, 2001.

DIMASI, Joseph A.; HANSEN, Ronald W.; GRABOWSKI, Henry G. The price of innovation: new estimates of drug development costs. **Journal of health economics**, v. 22, n. 2, p. 151-185, 2003.

DOMINGUEZ, Luis Garcia et al., Enhanced synchrony in epileptiform activity? Local versus distant phase synchronization in generalized seizures. **Journal of neuroscience**, v. 25, n. 35, p. 8077-8084, 2005.

EBERT, Ulrich; LÖSCHER, Wolfgang. Strong olfactory stimulation reduces seizure susceptibility in amygdala-kindled rats. **Neuroscience letters**, v. 287, n. 3, p. 199-202, 2000.

ENGEL JR, Jerome. Concepts of epilepsy. **Epilepsia**, v. 36, p. 23-29, 1995.

ENGEL, Jerome. Biomarkers in epilepsy: introduction. **Biomarkers in medicine**, v. 5, n. 5, p. 537-544, 2011.

ESPINOSA-JOVEL, Camilo et al., Epidemiological profile of epilepsy in low income populations. **Seizure**, v. 56, p. 67-72, 2018.

ESSLEN, Michaela et al., Brain areas and time course of emotional processing. **Neuroimage**, v. 21, n. 4, p. 1189-1203, 2004.

FIEST, Kirsten M. et al., Prevalence and incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis of international studies. **Neurology**, v. 88, n. 3, p. 296-303, 2017.

FISHER, Robert S. et al., Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). **Epilepsia**, v. 46, n. 4, p. 470-472, 2005.

FISHER, Robert S. et al., ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. **Epilepsia**, v. 55, n. 4, p. 475-482, 2014.

FISHER, Robert S. et al., Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. **Epilepsia**, v. 58, n. 4, p. 522-530, 2017.

FLECK, Marcelo et al., Aplicação da versão em português do instrumento de avaliação de qualidade de vida da Organização Mundial da Saúde (WHOQOL-100). **Revista de Saúde Pública**, v. 33, p. 198-205, 1999.

FREY, L. C.; KOBERDA, J. L. LORETA Z-score neurofeedback in patients with medically refractory epilepsy. **Neurol Neurobiol Volume1**, v. 1, 2015.

GAO, Xiang et al., Analysis of EEG activity in response to binaural beats with different frequencies. **International Journal of Psychophysiology**, v. 94, n. 3, p. 399-406, 2014.

GARCIA-CAIRASCO, N. Learning about brain physiology and complexity from the study of the epilepsies. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 42, p. 76-86, 2009.

GARCIA-CAIRASCO, Norberto. Puzzling challenges in contemporary neuroscience: insights from complexity and emergence in epileptogenic circuits. **Epilepsy & Behavior**, v. 14, n. 1, p. 54-63, 2009.

GARCIA-CAIRASCO, Norberto; PODOLSKY-GONDIM, Guilherme; TEJADA, Julian. Searching for a paradigm shift in the research on the epilepsies and associated neuropsychiatric comorbidities. From ancient historical knowledge to the challenge of contemporary systems complexity and emergent functions. **Epilepsy & Behavior**, p. 107930, 2021.

GARCIA-CAIRASCO, Norberto; UMEOKA, Eduardo HL; DE OLIVEIRA, José A. Cortes. The Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain and its contributions to epileptology and related comorbidities: history and perspectives. **Epilepsy & Behavior**, v. 71, p. 250-273, 2017.

GAZZANIGA, Michael Saunders; IVRY, Richard B.; MANGUN, George Ronald. **The biology of the mind**. WW Norton, 2006.

GOMES, Alexandre et al., Anticipatory eeg signals for detecting and classifying game interaction onset. In: **2015 XVII Symposium on Virtual and Augmented Reality**. IEEE, 2015. p. 31-32.

GOTMAN, J. et al., Generalized epileptic discharges show thalamocortical activation and suspension of the default state of the brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 42, p. 15236-15240, 2005.

GRIGOROVSKY, Vasily; BRETON, Vanessa; BARDAKJIAN, Berj L. Glial Modulation of Electrical Rhythms in a Neuroglial Network Model of Epilepsy. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, 2020.

HANEEF, Zulfi et al., Effect of lateralized temporal lobe epilepsy on the default mode network. **Epilepsy & Behavior**, v. 25, n. 3, p. 350-357, 2012.

HAO, Xiaoting et al., Uncontrolled epilepsy is not necessarily the same as drug-resistant epilepsy: differences between populations with newly diagnosed epilepsy and chronic epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v. 29, n. 1, p. 4-6, 2013.

HUANG, Tina L.; CHARYTON, Christine. A comprehensive review of the psychological effects of brainwave entrainment. **Database of Abstracts of Reviews of Effects (DARE): Quality-assessed Reviews [Internet]**, 2008.

HWANG, J. W. et al., Enhanced default mode network connectivity with ventral striatum in subthreshold depression individuals. **Journal of Psychiatric Research**, v. 76, p. 111-120, 2016.

INSTITUTO RUBEM ALVES. Frases. Disponível em: <<https://institutorubemalves.org.br/frases/>>. Acesso em: 13/01/2023

IASEMIDIS, Leonidas D.; SACKELLARES, J. Chris. ■ REVIEW: Chaos Theory and Epilepsy. **The Neuroscientist**, v. 2, n. 2, p. 118-126, 1996.

IOANNOU, Christos I. et al., Electrical brain responses to an auditory illusion and the impact of musical expertise. **PLoS One**, v. 10, n. 6, p. e0129486, 2015.

IZHIKEVICH, Eugene M. Polychronization: computation with spikes. **Neural computation**, v. 18, n. 2, p. 245-282, 2006.

JIANG, Lu-Wei et al., Altered attention networks and DMN in refractory epilepsy: a resting-state functional and causal connectivity study. **Epilepsy & Behavior**, v. 88, p. 81-86, 2018.

JIRUSKA, Premysl et al., Synchronization and desynchronization in epilepsy: controversies and hypotheses. **The Journal of physiology**, v. 591, n. 4, p. 787-797, 2013.

JURCAK, Valer; TSUZUKI, Daisuke; DAN, Ippeita. 10/20, 10/10, and 10/5 systems revisited: their validity as relative head-surface-based positioning systems. **Neuroimage**, v. 34, n. 4, p. 1600-1611, 2007.

KAILA, Kai et al., GABA actions and ionic plasticity in epilepsy. **Current opinion in neurobiology**, v. 26, p. 34-41, 2014.

KAPLAN, David I.; ISOM, Lori L.; PETROU, Steven. Role of sodium channels in epilepsy. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 6, n. 6, p. a022814, 2016.

KASPRZAK, C. Influence of binaural beats on EEG signal. **Acta physica polonica A**, v. 119, n. 6, p. 986-990, 2011.

KAY, Benjamin P. et al., Reduced default mode network connectivity in treatment-resistant idiopathic generalized epilepsy. **Epilepsia**, v. 54, n. 3, p. 461-470, 2013.

KROPOTOV, Juri. **Quantitative EEG, event-related potentials and neurotherapy**. Academic Press, 2010.

LANE, James D. et al., Binaural auditory beats affect vigilance performance and mood. **Physiology & behavior**, v. 63, n. 2, p. 249-252, 1998.

LARIVIÈRE, Sara et al., Connectome biomarkers of drug-resistant epilepsy. **Epilepsia**, v. 62, n. 1, p. 6-24, 2021.

LAUFS, Helmut et al., Temporal lobe interictal epileptic discharges affect cerebral activity in “default mode” brain regions. **Human brain mapping**, v. 28, n. 10, p. 1023-1032, 2007.

LEE, Kyung Jin; SHON, Young Min; CHO, Chul Bum. Long-term outcome of anterior thalamic nucleus stimulation for intractable epilepsy. **Stereotactic and functional neurosurgery**, v. 90, n. 6, p. 379-385, 2012.

LENT, Roberto. Cem bilhões de neurônios. **Conceitos fundamentais de neurociência**, v. 2, p. 631-639, 2010.

LENT, Roberto. Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência. In: **Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência**. 2004. p. 698-698.

LEVIRA, Francis et al., Premature mortality of epilepsy in low-and middle-income countries: a systematic review from the Mortality Task Force of the International League Against Epilepsy. **Epilepsia**, v. 58, n. 1, p. 6-16, 2017.

LOCOCK, Charles. Analysis of fifty-two cases of epilepsy observed by the author. **Lancet**, v. 1, p. 614-618, 1857.

LOGOTHETIS, Nikos K. What we can do and what we cannot do with fMRI. **Nature**, v. 453, n. 7197, p. 869-878, 2008.

LUO, Cheng et al., Altered functional connectivity in default mode network in absence epilepsy: a resting-state fMRI study. **Human brain mapping**, v. 32, n. 3, p. 438-449, 2011.

MAJUMDAR, Kaushik; PRASAD, Pradeep D.; VERMA, Shailesh. Synchronization implies seizure or seizure implies synchronization?. **Brain Topography**, v. 27, n. 1, p. 112-122, 2014.

MARTORELL, Anthony J. et al., Multi-sensory gamma stimulation ameliorates Alzheimer's-associated pathology and improves cognition. **Cell**, v. 177, n. 2, p. 256-271. e22, 2019.

MASTERTON, BRUCE; JANE, JOHN A.; DIAMOND, IRVING T. Role of brainstem auditory structures in sound localization. I. Trapezoid body, superior olive, and lateral lemniscus. **Journal of neurophysiology**, v. 30, n. 2, p. 341-359, 1967.

MCNAMARA, James O. Cellular and molecular basis of epilepsy. **Journal of Neuroscience**, v. 14, n. 6, p. 3413-3425, 1994.

MESRAOUA, Boulenouar et al., Novel therapies for epilepsy in the pipeline. **Epilepsy & Behavior**, v. 97, p. 282-290, 2019.

MOBASCHER, Arian et al., Fluctuations in electrodermal activity reveal variations in single trial brain responses to painful laser stimuli—A fMRI/EEG study. **Neuroimage**, v. 44, n. 3, p. 1081-1092, 2009.

MOELLER, Friederike et al., Simultaneous EEG-fMRI in drug-naïve children with newly diagnosed absence epilepsy. **Epilepsia**, v. 49, n. 9, p. 1510-1519, 2008.

MORAES, Márcio Flávio Dutra et al., Epilepsy as a dynamical system, a most needed paradigm shift in epileptology. **Epilepsy & Behavior**, v. 121, p. 106838, 2021.

MORGAN, Steve et al., The cost of drug development: a systematic review. **Health policy**, v. 100, n. 1, p. 4-17, 2011.

NGUGI, Anthony K. et al., Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: a meta-analytic approach. **Epilepsia**, v. 51, n. 5, p. 883-890, 2010.

NGUGI, Anthony K. et al., Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: a meta-analytic approach. **Epilepsia**, v. 51, n. 5, p. 883-890, 2010.

NIEDERMEYER, Ernst; SHERMAN, David L. Ultrafast EEG Frequencies—Not To Be Neglected in the Future. **American journal of electroneurodiagnostic technology**, v. 41, n. 3, p. 192-198, 2001.

OLBRICH, Sebastian et al., EEG-vigilance and BOLD effect during simultaneous EEG/fMRI measurement. **Neuroimage**, v. 45, n. 2, p. 319-332, 2009.

OSTER, Gerald. Auditory beats in the brain. **Scientific American**, v. 229, n. 4, p. 94-103, 1973.

PASCUAL-MARQUI, Roberto D. et al., Functional imaging with low-resolution brain electromagnetic tomography (LORETA): a review. **Methods and findings in experimental and clinical pharmacology**, v. 24, n. Suppl C, p. 91-95, 2002.

PEARCE, J. M. S. Bromide, the first effective antiepileptic agent. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 72, n. 3, p. 412-412, 2002.

PEGG, Emily J. et al., Interictal electroencephalographic functional network topology in drug-resistant and well-controlled idiopathic generalized epilepsy. **Epilepsia**, v. 62, n. 2, p. 492-503, 2021.

PERUCCA, Piero; SCHEFFER, Ingrid E.; KILEY, Michelle. The management of epilepsy in children and adults. **Medical Journal of Australia**, v. 208, n. 5, p. 226-233, 2018.

PRATT, Hillel et al., A comparison of auditory evoked potentials to acoustic beats and to binaural beats. **Hearing Research**, v. 262, n. 1-2, p. 34-44, 2010.

RAICHLE, Marcus E. et al., A default mode of brain function. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 2, p. 676-682, 2001.

RAICHLE, Marcus E.; SNYDER, Abraham Z. A default mode of brain function: a brief history of an evolving idea. **Neuroimage**, v. 37, n. 4, p. 1083-1090, 2007.

RINCON, Alejandro Lopez; SHIMODA, Shingo. The inverse problem in electroencephalography using the bidomain model of electrical activity. **Journal of neuroscience methods**, v. 274, p. 94-105, 2016.

ROSSETTI, Franco et al., EEG wavelet analyses of the striatum–substantia nigra pars reticulata–superior colliculus circuitry: Audiogenic seizures and anticonvulsant drug administration in Wistar audiogenic rats (War strain). **Epilepsy research**, v. 72, n. 2-3, p. 192-208, 2006.

RULLMANN, Michael et al., EEG source analysis of epileptiform activity using a 1 mm anisotropic hexahedra finite element head model. **NeuroImage**, v. 44, n. 2, p. 399-410, 2009.

SACHS, Gabriele et al., EEG mapping in patients with social phobia. **Psychiatry Research: Neuroimaging**, v. 131, n. 3, p. 237-247, 2004.

SALEK-HADDADI, Afraim et al., Functional magnetic resonance imaging of human absence seizures. **Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society**, v. 53, n. 5, p. 663-667, 2003.

SANTOS-VALENCIA, Fernando et al., Temporally irregular electrical stimulation to the epileptogenic focus delays epileptogenesis in rats. **Brain stimulation**, v. 12, n. 6, p. 1429-1438, 2019.

SCHEVON, Catherine A. et al., Cortical abnormalities in epilepsy revealed by local EEG synchrony. **Neuroimage**, v. 35, n. 1, p. 140-148, 2007.

SCHMIDT, Sarah et al., Complex effects of eslicarbazepine on inhibitory micro networks in chronic experimental epilepsy. **Epilepsia**, v. 62, n. 2, p. 542-556, 2021.

SHARMA, Rajeev; PACHORI, Ram Bilas. Classification of epileptic seizures in EEG signals based on phase space representation of intrinsic mode functions. **Expert Systems with Applications**, v. 42, n. 3, p. 1106-1117, 2015.

SHIH, Yao-Chia et al., Seizure frequency is associated with effective connectivity of the hippocampal–diencephalic–cingulate in epilepsy with unilateral mesial temporal sclerosis. **Brain Connectivity**, 2021.

SHULMAN, Gordon L. et al., Common blood flow changes across visual tasks: I. Increases in subcortical structures and cerebellum but not in nonvisual cortex. **Journal of cognitive neuroscience**, v. 9, n. 5, p. 624-647, 1997.

SIEGEL, Joseph; SIEGEL, Aki. Getting to the bottom of L2 listening instruction: Making a case for bottom-up activities. **Studies in Second Language Learning and Teaching**, v. 5, n. 4, p. 637-662, 2015.

SINGH, Anuradha; TREVICK, Stephen. The epidemiology of global epilepsy. **Neurologic clinics**, v. 34, n. 4, p. 837-847, 2016.

SIULY, Siuly et al., A new data mining scheme for analysis of big brain signal data. In: **Australasian Database Conference**. Springer, Cham, 2017. p. 151-164.

SIULY, Siuly; LI, Yan; ZHANG, Yanchun. EEG signal analysis and classification. **IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng**, v. 11, p. 141-4, 2016.

SRIDHARAN, R. Epidemiology of epilepsy. **Current science**, p. 664-670, 2002.

TEJADA, Julián et al., The epilepsies: complex challenges needing complex solutions. **Epilepsy & Behavior**, v. 26, n. 3, p. 212-228, 2013.

TOMSON, Torbjörn; NASHEF, Lina; RYVLIN, Philippe. Sudden unexpected death in epilepsy: current knowledge and future directions. **The Lancet Neurology**, v. 7, n. 11, p. 1021-1031, 2008.

WAGNER II, H. Ryan et al., Suppression of cortical epileptiform activity by generalized and localized ECoG desynchronization. **Electroencephalography and clinical neurophysiology**, v. 39, n. 5, p. 499-506, 1975.

WAHBEH, Helane; CALABRESE, Carlo; ZWICKEY, Heather. Binaural beat technology in humans: A pilot study to assess psychologic and physiologic effects. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 13, n. 1, p. 25-32, 2007.

WAITES, Anthony B. et al., Functional connectivity networks are disrupted in left temporal lobe epilepsy. **Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society**, v. 59, n. 2, p. 335-343, 2006.

WERHAHN, Konrad J. et al., A randomized, double-blind comparison of antiepileptic drug treatment in the elderly with new-onset focal epilepsy. **Epilepsia**, v. 56, n. 3, p. 450-459, 2015.

ZIBROWSKI, Elaine M.; VANDERWOLF, C. H. Oscillatory fast wave activity in the rat pyriform cortex: relations to olfaction and behavior. **Brain research**, v. 766, n. 1-2, p. 39-49, 1997.

APÊNDICE A – TERMO DE CONCENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO-TCLE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E

ESCLARECIDO

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução
466/12)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa CARACTERIZAÇÃO NEUROFISIOLÓGICA DO EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ACÚSTICA BINAURAL NÃO-PERÍODICA EM PACIENTES EPILÉTICOS E CONTROLES SAUDÁVEIS que está sob a responsabilidade do pesquisador Igor Tchaikovsky Mello de Oliveira, residente na Rua major armando de souza melo, 112, Setúbal, Recife-PE, 51030-180. Contatos: (81) 997299539 e igo_pe@hotmail.com. Está sob a orientação do Prof. Dr. Marcelo Cairrão de Araújo Rodrigues.

Caso este Termo de Consentimento contenha informações que não lhe sejam compreensíveis, as dúvidas podem ser tiradas com a pessoa que está lhe entrevistando e apenas ao final, quando todos os esclarecimentos forem dados, caso concorde com a realização do estudo pedimos que rubricue as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias, uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Caso não concorde, não haverá penalização, bem como será possível retirar o consentimento a qualquer momento, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Motivação: Esta pesquisa visa criar uma nova técnica não-invasiva para auxiliar no tratamento da epilepsia e que não respondam aos tratamentos com remédios. Esta pesquisa está estudando como funciona um som com propriedade anti-epilépticas.

Procedimentos: Esta pesquisa envolve pacientes epilépticos e pessoas que não possuam epilepsia (controles). Todos serão sorteados para entrar num grupo que receberá o som verdadeiro ou um som falso. Tal é importante para nosso estudo. Avisamos aos pacientes que, caso seja comprovada eficácia do som no tratamento da epilepsia, todos receberão gratuitamente este som mesmo após o término do estudo. Sendo assim, caso você seja sorteado para o grupo do som falso, você receberá depois da pesquisa o som verdadeiro e não será prejudicado. Os participantes ficarão sentados confortavelmente, e será colocada uma touca em suas cabeças. Esta touca possui diversos fios, mas nada irá perfurar sua pele, são apenas externos. Iremos aplicar um gel nesses fios, e em caso de reação alérgica ou se incomodarem, eles serão retirados. Esses fios servem para realizar o exame de eletroencefalografia (EEG), que é medir a atividade elétrica do seu cérebro de forma não-invasiva e indolor. Após esse primeiro registro, serão posicionados fones de ouvido para aplicação dos sons. A escolha do grupo será feita através de sorteio e o participante não saberá se está recebendo o som verdadeiro ou falso. O som falso não faz mal à saúde. Caso seja detectada alguma anomalia

no registro, o participante será encaminhado ao setor de Neurologia do Hospital das Clínicas da UFPE. A duração total do experimento será de 60 minutos, aproximadamente. Durante a pesquisa todos os participantes deverão manter o esquema terapêutico prescrito pelo seu médico.

Riscos: Os participantes podem ficar constrangidos ao responder os questionários. Os sons não oferecem risco à saúde, mas caso algum paciente passe mal ou inicie uma crise convulsiva, haverá uma equipe com médico e enfermeiro a postos para controlar a situação. Há também o apoio do Setor de Neurologia do HC-UFPE. É possível (embora difícil de acontecer), que o gel aplicado cause coceira, alergia ou reação. Neste caso o participante será imediatamente atendido. É possível que o som cause algum incômodo, e tal deve ser relatado à equipe.

Benefícios: Avaliação por equipamento eletroencefalográfico gratuita. Ao final das avaliações dos dados obtidos através do exame de EEG, os pacientes poderão obter informações sobre os resultados das técnicas aplicadas durante o estudo. Caso os registros mostrem alguma anomalia, haverá o encaminhamento ao Setor de Neurologia do HC-UFPE.

Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa como os diários de crises, questionários e exames de Eletroencefalograma ficarão armazenados em arquivo pessoal das pesquisadoras responsáveis nos endereços acima informados, pelo período de no mínimo 5 anos.

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Você pode deixar a pesquisa a qualquer momento, sem nenhum prejuízo ou constrangimento. Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: **(Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).**

(Assinatura do
pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo *CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ACÚSTICA BINAURAL NÃO-PERIÓDICA PARA BLOQUEIO DE CRISES CONVULSIVAS NO CÉREBRO DE PACIENTES EPILÉTICOS E NÃO EPILÉTICOS* como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

Local e data _____

Assinatura do participante: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO
COMPORTAMENTO**

QUESTIONÁRIO DE IDENTIFICAÇÃO

DADOS PESSOAIS

Nome: _____

Gênero: Masculino Feminino Outro: _____
☐ ☐ ☐

Idade: _____ Escolaridade: _____

Telefone: _____ E-mail: _____

EXPERIÊNCIA COM ESTIMULAÇÃO BINAURAL OU ESTIMULAÇÃO

Você já recebeu ou recebe estimulação Binaural? Sim ☐ Não ☐

Como ficou sabendo da técnica? _____

Como você avalia o efeito provocado pela utilização da técnica?

HISTÓRICO DE SAÚDE

Você tem ou teve uma dessas patologias abaixo diagnosticada por um profissional de saúde?

☐ Depressão ☐ Ansiedade Generalizada ☐ Síndrome do Pânico

☐ Pânico ☐ Fobia, qual? _____

Você faz uso contínuo de medicamentos, entorpecentes e/ou drogas?

☐ Sim ☐ Não

Qual/quais? _____

☐ Sim ☐ Não

Você faz uso de aparelho auditivo?

☐ Sim ☐ Não

Você possui marca-passo cardíaco?

☐ Sim ☐ Não

Você possui implante metálico?

☐ Sim ☐ Não, se sim, onde? _____

Você está grávida?

☐ Sim ☐ Não

Você lembra a data da sua última crise?

☐ Sim ☐ Não Qual o dia? ____/____/____

Com que frequência normalmente ocorre suas crises?

Como são as suas crises?

APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO DOS EFEITOS ADVERSOS DA ESTIMULAÇÃO ACÚSTICA BINAURAL NÃO PERIÓDICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO
COMPORTAMENTO

Caracterização neurofisiológica do efeito da estimulação acústica binaural não-periódica em
pacientes epiléticos e controles saudáveis

Paciente: _____

Data da primeira sessão: ____/____/____ Grupo: Verum ☐ Sham ☐

Responsável pelo preenchimento: _____

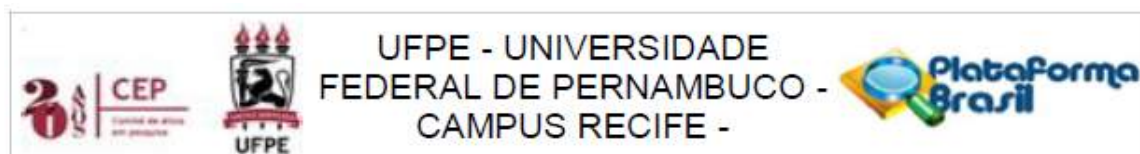
QUESTIONÁRIO SOBRE EFEITOS ADVERSOS DA APLICAÇÃO DA ESTIMULAÇÃO ACÚSTICA BINAURAL NÃO PERIÓDICA

Para responder as questões a seguir, marque ao lado do sintoma correspondente sentido pelo paciente 1- para sintomas leves, 2 - para sintomas moderados e 3- para sintomas fortes. Não havendo sintomas, deixar em branco.

Você apresentou algum dos sintomas seguintes?	Sessão 1
Dor de cabeça	
Tontura	
Enjoo	
Desorientação	
Crise convulsiva	
Mudança de humor	

Para outros sintomas, descrever abaixo a sessão correspondente e o sintoma sentido pelo paciente.

APÊNDICE D – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 3.007.648

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização neurofisiológica do efeito da estimulação acústica binaural não-periódica em pacientes epiléticos e controles saudáveis

Pesquisador: IGOR TCHAIKOVSKY MELLO DE OLIVEIRA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 00227418.4.0000.5208

Instituição Proponente: Pós Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.007.648

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB INFORMACOES BASICAS_DO_PROJETO_1229123.pdf	04/10/2018 11:46:11		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	04/10/2018 11:34:55	IGOR TCHAIKOVSKY MELLO DE	Aceito
Outros	termo_de_confidencialidade.pdf	04/10/2018 11:24:47	IGOR TCHAIKOVSKY	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	04/10/2018 11:23:01	IGOR TCHAIKOVSKY MELLO DE OLIVEIRA	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rostoassinada.pdf	01/10/2018 16:29:36	IGOR TCHAIKOVSKY	Aceito
Outros	anuencia_hospital_das_clinicas.pdf	01/10/2018	IGOR	Aceito

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



Continuação do Parecer: 3.007.648

Outros	anuencia_hospital_das_clinicas.pdf	16:29:12	MELLO DE	Aceito
Outros	lattes_marilia.pdf	27/09/2018 15:58:28	IGOR TCHAIKOVSKY	Aceito
Outros	lattes_maria.pdf	27/09/2018 15:58:01	IGOR TCHAIKOVSKY	Aceito
Outros	lattes_maira.pdf	27/09/2018 15:57:48	IGOR TCHAIKOVSKY	Aceito
Outros	lattes_jeny.pdf	27/09/2018 15:57:32	IGOR TCHAIKOVSKY	Aceito
Outros	lattes_wellington.pdf	27/09/2018 15:57:20	IGOR TCHAIKOVSKY	Aceito
Outros	lattes_marcelo.pdf	27/09/2018 15:57:05	IGOR TCHAIKOVSKY	Aceito
Outros	lattes_igor.pdf	27/09/2018 15:56:52	IGOR TCHAIKOVSKY	Aceito
Outros	declaracao_vinculo_posneuro_igor.pdf	27/09/2018 15:56:06	IGOR TCHAIKOVSKY	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	anuencia_infraestrutura_neurodinamica. pdf	27/09/2018 15:54:36	IGOR TCHAIKOVSKY MELLO DE	Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	27/09/2018 15:53:53	IGOR TCHAIKOVSKY	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

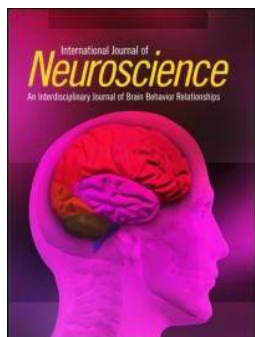
Não

RECIFE, 08 de Novembro de 2018

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
(Coordenador(a))

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-800
UF: PE Município: RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 E-mail: cepocs@ufpe.br

ANEXO A – ARTIGO ORIGINAL DE PRIMEIRA AUTORIA “BEHAVIOR AND ELECTROPHYSIOLOGICAL EFFECTS ON STRIATUM-NIGRA CIRCUIT AFTER HIGH FREQUENCY STIMULATION. RELEVANCE TO PARKINSON AND EPILEPSY” PUBLICADO NA “THE INTERNATIONAL JOURNAL OF NEUROSCIENCE”



Behavior and electrophysiological effects on striatum-nigra circuit after high frequency stimulation. Relevance to Parkinson and Epilepsy

Igor Tchaikovsky, Marilia Marinho Lucena, Belmira-Lara da Silveira Andrade da Costa, Norberto Garcia-Cairasco, Pedro Valadão Carelli & Marcelo Cairrao

To cite this article: Igor Tchaikovsky, Marilia Marinho Lucena, Belmira-Lara da Silveira Andrade da Costa, Norberto Garcia-Cairasco, Pedro Valadão Carelli & Marcelo Cairrao (2021): Behavior and electrophysiological effects on striatum-nigra circuit after high frequency stimulation. Relevance to Parkinson and Epilepsy, International Journal of Neuroscience, DOI: [10.1080/00207454.2021.1929216](https://doi.org/10.1080/00207454.2021.1929216)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/00207454.2021.1929216>

 View supplementary material 

 Accepted author version posted online: 04 Jun 2021.

 Submit your article to this journal 

 Article views: 24

 View related articles

  View Crossmark data 



Behavior and electrophysiological effects on striatum- nigra circuit after high frequency stimulation. Relevance to Parkinson and Epilepsy

Igor Tchaikovsky¹, Marilia Marinho Lucena¹, Belmira-Lara da Silveira Andrade da Costa¹, Norberto Garcia-Cairasco², Pedro Valadão Carelli³, and Marcelo Cairrao^{1*}

¹Federal University of Pernambuco, Physiology and Pharmacology, Recife, Brazil

²Ribeirão Preto Medical School, Physiology Department, Sao Paulo, Brazil

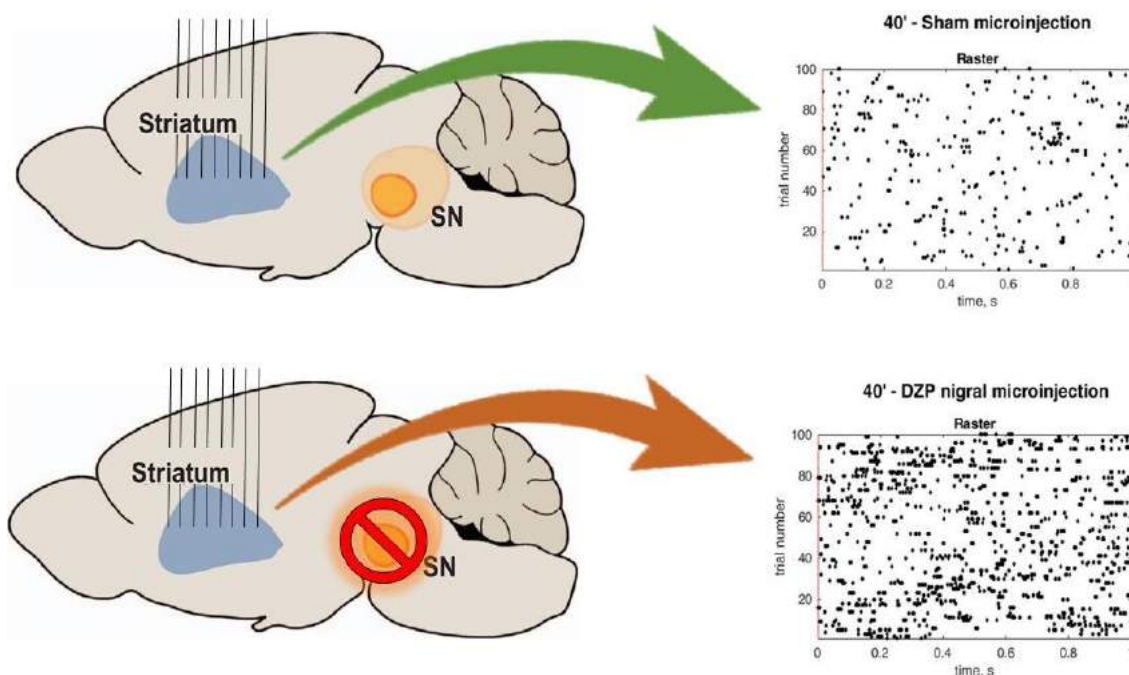
³Federal University of Pernambuco, Physics Department, Recife, Brazil

*maderp@gmail.com

Abstract

The phenomenon of plasticity in the striatum, and its relation with the striatum-nigra neuronal circuit has clinical and neurophysiological relevance to Parkinson and epilepsy. High frequency stimulation (HFS) can induce neural plasticity. Furthermore, it is possible to induce plasticity in the dorsal striatum and this can be modulated by substantia nigra activity. But it has not been shown yet what would be the effects in the striatum-nigra circuit after plasticity induction in striatum with HFS. Literature also misses a detailed description of the way back loop of the circuit: the striatal firing rate after substantia nigra's inhibition. We here conducted: First Experiment, application of HFS in dorsomedial striatum and measure of spontaneous and longlasting behavior expression in the open field three days later; Second, application of single pulses on dorsomedial striatum and measure of the evoked potentials in substantia nigra before and after HFS; Third Experiment: inhibition of substantia nigra and recording of the firing rate of dorsomedial striatum. HFS in dorsomedial striatum caused increased locomotion behaviors, but not classical stereotypy. However, rats had either an increase or decrease in substantia nigra's evoked potentials. Also, substantia nigra's inhibition caused an increase in dorsomedial striatum firing rate. Present data are suggestive of a potential application of HFS in striatum, as an attempt to modulate behavior rigidity and hypokinesia of diseases involving the basal ganglia, especially Parkinson's Disease.

Graphical Abstract



Keywords: Striatum, substantia nigra pars reticulata, neuronal firing rate, evoked potential, High frequency stimulation, behavior

Introduction

The longterm potentiation (LTP) and longterm depression (LTD) are plasticity events related to an increase or decrease of strengthening of synaptic connections, respectively (Bliss and Collingridge, 1993). In the striatum, it is possible to induce LTP or LTD, depending on the stimulation parameters (Partridge *et al.*, 2000; Reynolds and Wickens, 2000). While LTD was reported to be the major form of corticostriatal plasticity, it has been shown that LTP and LTD can be induced by the high frequency stimulation (HFS) of corticostriatal fibers (Calabresi *et al.*, 1992). Notably, the substantia nigra is a key determinant of striatum excitability (Reynolds and Wickens, 2000). The medium-sized spiny projection neurons (95% of all striatum neurons, Kita and Kitai, 1988) of the neostriatum are a site at which dopamine inputs from the substantia nigra converge with excitatory inputs from the cerebral cortex (Smith *et al.*, 1994; Reynolds and Wickens, 2000). *In vivo* findings show that LTD may occur in the corticostriatal pathway after HFS, and this depression can be prevented or reversed by concomitant stimulation of the substantia nigra in controls, not on dopamine depleted rats (Reynolds and Wickens, 2000). This suggests that stimulation of the substantia nigra would increase the firing rate in dorsomedial striatum. But the effect on the firing rate of dorsomedial striatum after nigra excitation or inhibition has never been measured directly. This information is important for the understanding of Parkinson's disease, a condition where functional relationship between striatum and substantia nigra is impaired.

Functional connection between striatum and substantia nigra is also important in the context of experimental epilepsy. Many descriptions of anticonvulsant properties are derived from striatum disinhibitions in different animal models of epilepsy, for example: amygdala kindling (Cavalheiro

and Turski, 1986), local bicuculline microinjection in deep prepiriform cortex, either systemic pilocarpine, bicuculline or kainic acid (Turski *et al.*, 1989). Striatum is the main entrance of basal ganglia (Bolam *et al.*, 2000). It receives excitatory inputs from cerebral cortex, and generates two pathways (the direct and the indirect) (Bolam *et al.*, 2000), with multiple sequenced inhibitory synapses (Chevalier *et al.*, 1985; Deniau and Chevalier, 1985). Both of them are aimed at the exit nuclei of basal ganglia, SNr pars reticulata (SNPr) and internal globus pallidus. Nevertheless, since Garant and Gale (1987) were aiming to establish the most important nigral output pathways, the role of the striatum in seizure control was taken as less prominent when compared to the nigrotectal fibersto the superior colliculus. Further lessons can be learned from rat strains genetically susceptible to epilepsy, such as the Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain (for a review, see Garcia-Cairasco *et al.*, 2017). In this strain, bicuculline microinjection in posterior superior colliculus could not protect animals from audiogenic seizures (Rossetti *et al.*, 2011). However, in the same rat strain, systemic phenobarbital, a treatment that effectively blocked audiogenic seizures in WARs, changed substantially the oscillation pattern of local field potentials in the superior colliculus and SNPr, but not in the striatum (Rossetti *et al.*, 2006). Since WAR animals are prone to epilepsy, it has been proposed that their striatum unresponsiveness could contribute to their seizure-prone phenotype (Rossetti *et al.*, 2011). Notwithstanding, since striatum disinhibition itself has proven to be anticonvulsant (Turski *et al.* 1986a and b), the latter nucleus should also be seen as an important regulatory site for the endogenous control of seizures. This long series of papers involving basal ganglia and the control of epilepsy (called sometimes as “nigral control of epilepsy”, Depaulis *et al.*, 1984), has always supposed that the inhibition of substantia nigra would increase excitability in the striatum, but this fact has never been shown directly, that is, with firing rate quantification.

From the above, it is clear that high frequency stimulation (HFS) is an important method to induce plasticity, and that it is possible to obtain both LTP or LTD in the dorsal striatum depending on the experimental parameters (Partridge *et al.*, 2000; Reynolds and Wickens, 2000). Also, other experiments have shown that substantia nigra can modulate plasticity in the striatum (Reynolds and Wickens, 2000). But until this moment, it has not been shown what would be the effects in the striatum-nigra circuit after plasticity induction in the striatum of awake rats with HSF. Literature is also missing a detailed description of the way back loop of the circuit: the striatal firing rate after nigra’s inhibition, and these are the objectives of present study. Our hypothesis is that HFS would induce plasticity in the striatum with long lasting behavioral effects. There would be also a correlated change in evoked potentials stimulated in the striatum and recorded in substantia nigra. We also believe that nigral inhibition would increase the firing rate in striatum.

Materials and Methods

Three experiments were done. First, to apply HFS (100 Hz per second) in dorsomedial striatum for three consecutive days and measure spontaneous behavior expression in the open field; Second, to apply single pulses on dorsomedial striatum and measure the evoked potentials in substantia nigra before and after HFS; Third: execute pharmacological inhibition of SNPr’s with bilateral diazepam microinjections and record the firing rate of dorsomedial striatum (the way back circuit).

First and Second Experiments

The first and second experiments consisted in HFS in striatum, with behavior analysis and evoked potential in SNPr, respectively. They were executed in the same rats.

Animals

Eight male Long Evans rats (60 to 90 days) were used from the animal vivarium of the Physics Department (Federal University of Pernambuco, Brasil). They were kept in ventilated cages (Alesco) with controlled temperature (22 ± 2 °C) and luminosity (12 h light, starting 6:00 a.m.), commercial standard diet (Labina®) and water *ad libitum*.

Stereotaxic Surgery

Animals were kept on a standard rack for rats (Alesco, Monte Mor, Brazil) with water and food *ad libitum*, with controlled temperature (23-25°C) and light/dark cycle (12 h/12 h). Animals received pre-anesthetic enflurane gas and then deeply anesthetized with ketamine (0.1 ml/100 g) and xylazine (0.01 ml/100 g). After craniotomy and dura mater resection, one stainless steel stimulation electrode (100 μ m, for HFS or isolated pulses), teflon coated except in the tip (Figure 1C, DMS), was positioned in the left striatum (coordinates, in mm: -5,52 AP, +2,6 meso-lateral ML, +8,4 DV, Paxinos&Watson, 2007) (see picture in Figure 1C, DMS). Also, eight small tungsten recording electrodes (50 μ m, electron microscopy in Figure 1B, button), polyamide coated except in the tip, were inserted in the left SNPr (-5,52 anterior-posterior, AP; +2,6 meso-lateral, ML; +8,4 dorsoventral, DV; coordinates based on Paxinos& Watson, 2007) (Figure 1C, SNPr). These were soldered to a printed homemade circuit board (Figure 1B), and this one was plugged into an Omnetics connector. Finally, the animals received an intramuscular injection of an analgesic, anti-inflammatory and antipyretic (CantrimolR 2.5 mg/kg, based on penicillin and streptomycin, associated with triamcinolone acetate) and returned to the vivarium for a recovery period of seven days. All animal manipulations were performed following the recommended requirements of the National Council for Animal Experimentation (CONCEA) and were approved by the Ethics Committee from the Federal University de Pernambuco (CEUA: protocol no. 23076.018110/2013-72). All efforts were made in order to avoid any unnecessary animal suffering and to reduce the number of animals used.

Electrical Stimulation Parameters

The HFS used in present study consisted of 100 Hz electrical pulses with three second duration and 1 s interval (Figure 1A, right). The pulse was a bipolar sinusoidal wave (Figure 1A, bottom) applied to the stimulation electrode implanted in dorsomedial striatum (Figure 1C). It ranged from +15mV to -15 mV, duration 130 μ s. Since it was applied to the same electrode, no net charges were left in the tissue, reducing the risk of lesions. For the evoked potentials recorded in SNPr, the same bipolar pulse was applied in the dorsomedial striatum, but in a low frequency (one pulse every 10 s) for 5 min (resulting in 30 recordings). An average evoked potential algorithm was developed to average recordings with 100 ms duration, starting from stimulation onset (Figure 1E). The first 20 ms were ignored to make sure that only the evoked response was included in the analysis (Figure 1E, “analyzed epoch”). An additional z-score analysis was used to guarantee that the evoked response was actually biological and not only electronic artifact (see legend of Figure 1 for more details). The stimulator used was a homemade version yielded by Prof. Vinicius Rosa Cota (Federal University of São João Del Rei, Brazil). The local field recording was done with TDT biocamp processor RZ2S3 series (Tucker Davies, Alachua, USA).

Experimental Groups

Animals ($n = 8$) were assigned into one group, analyzed before and after HFS. All received stereotaxic implant of electrodes into the striatum and substantia nigra and had the local field potential (LFP) recorded in substantia nigra.

Experimental Procedure

After the recovery period, in the first day of experiment rats were positioned in an acrylic openfield (45 cm x 45 cm x 45 cm), whose floor was marked with squares for manual quantification of ambulation. Rats were filmed. They were left in the arena for 10 min, but only the last five minutes were included in the behavioral analysis. Besides ambulation, the number of rearing and *wet dog shake* events and also the immobility times were quantified. Afterwards, rats were plugged in the stimulator and the local field potential (LFP) recorder. 30 pulses were applied in dorsomedial striatum in 5 min, and the nigra's LFP was recorded and averaged (evoked potential before HFS). Then, all rats were plugged in the electrical stimulator and received HFS. In the second day of the experiment, rats only received HFS again in the dorsomedial striatum. On the third day of experiment, rats were put again in the openfield for 10 min, and behavior parameters were acquired for 5 min, as before. Then, the evoked potential in nigra was recorded again, following the same protocol. It is important to note that rats did not receive HFS on the third day of the experiment. Behavior and evoked potential changes eventually present in this day were called "after HFS", but they reflected the plasticity induced by the two previous days. As our objective was to search for long-lasting plasticity effects, there was no short period influence of HFS.

Third Experiment

This experiment consisted in nigral inhibition with diazepam and record the firing rate in the striatum.

Animals and surgery

Eleven male adult Wistar rats (60-90 days; 250-300 g) were used from the Physiology and Pharmacology Department, Federal University of Pernambuco. The animals were randomly assigned into 2 groups: 1) control ($n = 5$) that received sham manipulation (physical introduction of cannulae into the brain, but no liquid infusion); 2) experimental group ($n = 6$) which received actual injection of saline and, 20 min later, diazepam in SNPr. Animals were kept on a standard rack for rats (Alesco, Monte Mor, Brazil) with water and food *ad libitum*, with controlled temperature (23-25°C) and light/dark cycle (12 h/12 h). All animal manipulations were performed following the recommendations requirements of the National Council for Animal Experimentation (CONCEA) and were approved by the Ethics Committee from the Federal University de Pernambuco (CEUA: protocol no. 23076.018110/2013-72). All efforts were made in order to avoid any unnecessary animal suffering and to reduce the number of animals used. Animals received pre-anesthetic enflurane gas and then deeply anesthetized with ketamine (0.1 ml/100 g) and xylazine (0.01 ml/100 g). After craniotomy and dura mater resection, a homemade tungsten multielectrode array (32 electrodes, outer diameter 50 μ m; California Fine Wire Company, CA, USA), was implanted into the left striatum, with the coordinates in reference to bregma anterior-posterior (AP)= 1.56 mm; lateral (L)= -3.0 mm; ventral (V)= 3.7 mm (Paxinos& Watson, 1986). Rats were kept anesthetized during the experimental procedure. Multielectrode contact with the cortical surface was used to set a zero level. The electrode impedances ranged from 50 to 150 k Ω . Two guiding-cannulae (23 G) were positioned for bilateral microinjection of diazepam (DZP, 0,2 μ l of a solution of 2.5 mg/ml in saline) in SNPr (AP=-5.0 mm; L=-2.6 mm and +2.6 mm respectively; V=-8.5 mm) (Paxinos& Watson, 1986) for nigral inhibition.

Experimental protocol, acquisition and data analysis

Microinjections were performed with 30 G cannulae and a PE10 polyethylene tubing connected to a 10 microliter Hamilton syringe, with the aid of a semi-automatic pump (Insight, Ribeirão Preto, Brazil). One minute after the end of the microinjections, local field potentials (LFP) were recorded for 10 min. For the experimental group, data were organized as follows. Block 1 (basal period). Striatum recording starts from the beginning of the experiment and before any microinjection. Block 2 (saline, recorded 20 to 30 min after basal). Striatum firing rate is recorded after bilateral microinjection of a volume of 0.2 μ l (0.1 μ l/min) of 0.9% saline in the SNPr. Block 3 (diazepam, recorded 40 to 50 min after basal). Recording of striatum firing rate after bilateral SNPr microinjection of diazepam with the same volume and velocity as before. The whole experimental procedure lasted about 1 h. Sham controls were anesthetized the same way, had equal brain implant of electrodes for striatum recording, and the microinjection cannulae was positioned in SNPr, but nothing was injected (sham injection). Recordings were done at equivalent times (same recording blocks).

Striatum recordings were performed using an RZ2 Tucker-Davis-Technology (FL, USA) amplifier. The Multiunit signal was acquired at 12 KHz sample rate, pre-amplified, filtered (bandpass: 0.5–5 kHz), amplified 20.000 x and both LFP and firing rate activity were recorded for offline analysis. The LFP, firing rate activity and raster plotting were calculated using the appropriate algorithm developed by the manufacturer (TDT2mat, http://www.tdt.com/files/manuals/OpenDeveloper_Manual.pdf). The threshold for spike counting was considered 20 μ V, that is 4.5 times the standard deviation of the basal amplitude of striatal recordings, and was used for the firing rate quantification and raster plot.

Histological analysis

After all experimental procedures, the rats received anti-inflammatory and antibiotic (Cantrimol® 0.1 mL/100 g) and remained in the vivarium for five days until euthanasia, as to permit brain own organization and microglial aggregation around electrode tips. Animals were euthanized by transcardiac perfusion under excess anesthesia (Enflurane®) and perfused with 50 ml of PBS (50 mM, pH 7.4) and 300 ml of paraformaldehyde in PBS (PFA 4%, pH 7.4). After perfusion, the brains were placed in ascending sucrose solution (10%, 20%, and 30%) for dehydration, sectioned and stored in a freezer at -4° F in cryoprotectant solution for histological analysis.

Brain tissue was cut in coronal slices of 50 μ m using a cryostat (Leica CM1860) to evaluate the stereotactic placement of the multielectrode array in striatum and injection cannulae in SNPr (Figure 3C). For the inspection of the microelectrode array, tissue was processed by immunohistochemistry with the microglial marker ionized calcium binding adaptor molecule 1 (IBA 1, Wako®) and diaminobenzidine (DAB, Vector ABC kit®). For confirmation of SNPr microinjection sites, non-processed slices for IBA1 were visually inspected. Only rats with correct positioning of cannulas and multielectrode arrays were included in the analysis (Figure 3C).

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Graphpad Prism 5.0. For comparison of the firing rate between saline and diazepam recordings in the experimental group, it was used in Mann-Whitney test. For comparison between baseline, 20' and 40' blocks in the sham control group, the Wilcoxon nonparametric test was used. Differences between groups were considered statistically significant when $p \leq 0.05$.

Results

First and Second Experiment

Behavioral effect of HFS in dorsomedial striatum

The delivery of HFS in dorsomedial striatum induced an increase in behavioral mobility including walking, rearing, *wet dog shakes* and grooming (Figure 1F). This was verified three days later, but persisted up to 16 days after stimulation (data not shown). These effects were seen in the morning of the third day, before any stimulation. They were stimulated the two days before (48 and 24 h before). But no classic stereotypy (such as biting continuously the cage bars) was seen. Animals presented lower immobility periods compared to the before HFS period (data not shown).

Evoked potential in the striatum-nigra circuit after HFS in striatum

The amplitude of the evoked potentials recorded in nigra were not the same in all rats. Two main profiles were detected: some rats had a decrease and some had an increase in local field potential after HFS (Figure 1G). But behavioral expression was the same, with no correlation between those rats with increase or decrease in nigra's evoked potential.

Third Experiment

Firing Rate

It was calculated the global firing rate of striatum for all experimental conditions. Figure 1 shows the normalized firing rate results. In the experimental group, bilateral microinjection of DZP in the SNPr caused a significant increase in the firing rate recorded in the striatum, with approximately 15% compared to saline injection in the same group ($p < 0.05$, Mann Whitney). The *sham* group showed a progressive decrease in the firing rate of 14% recorded 20' and 34% recorded 40' after sham injection procedure (Figure 1, inset). The absolute value of firing rate in the striatum of DZP injected animals was 47% higher when compared to the 40' sham injection animals ($p < 0.05$, Mann-Whitney test, data not shown).

For the sake of clarity, results are also shown in the raster plot form (Figure 3). Again, the firing rate in sham controls exhibits a decrease 20 min and 40 min after basal recording (Figure 2, A). However, in the experimental group, the microinjection of diazepam-induced an increase in the firing rate compared to saline (Figure 2, B). In Figure 2 C, it can also be seen the histological positioning of the multielectrode array and nigral injection sites.

Discussion

The main finding of the current study is that HFS in striatum caused deep changes in behavior and in the striatum-nigra circuit. These effects were seen three days after the stimulation, and persisted up to our maximum inspection period of 16 days. We also demonstrated that the back circuit loop was subject to changes, as the inhibition of nigra itself increased the firing rate of the striatum.

At first, we imagined that the behavior effects after HFS in striatum would provoke classic

stereotypy. But rats did not seem to be executing the same oral behavior repeatedly, as it is described for classic dopaminergic pharmacological stimulation (Delfs and Kelley, 1990). Rats had normal appearance, but only looked agitated, walking and displaying grooming continuously. Probably, the plasticity obtained by electrical HFS increased the overall activity of the cortical-basal ganglia loops, and not only a subpopulation of D1 or D2 containing neurons. This effect deserves future investigation for possible beneficial outcomes under Parkinson's hypokinesia states.

Regarding the evoked potential, our initial hypothesis included possible increases or decreases in the local field potential after HFS in the striatum. It is described in literature that the striatum can undergo LTP or LTD, depending on stimulation parameters. Subsequently, it was speculated that behavioral changes would have any correspondence with the direction of the local field potential. But this was not the case. All rats showed the same behavior effects irrespective of the increase or decrease in the local field potential. A limitation of present study is that there was no fine identification of the pathways involved in the evoked potential, that is, direct or indirect. It is possible that in those rats where the evoked potential reached the indirect pathway, an inhibition of the substantia nigra was seen, and consequently a decrease in the local field potential. The opposite could also be true, that is, in those rats with direct pathway being recorded, the increase in the local field potential could have occurred. This study must be replied with pathway tracers and a more refined anatomical observation. Notwithstanding, present work reached its main goal that was to induce plasticity in the striatum and describe its behavioral and electrophysiological effects in the striatum-nigra effects. These experiments pave the way to new protocols of circuit modulation and impacts in the understanding of Parkinson's disease.

Regarding epilepsy, the Third Experiment was a proof of concept, where it became clear that the inhibition of SNPr increases the firing rate in the striatum. This effect could seem logical by the inhibitory effects of basal ganglia over thalamus, and its excitatory influence over cerebral cortex, and finally, its stimulation over striatum (Chevalier *et al.*, 1985; Deniau and Chevalier, 1985). Notwithstanding, this phenomenon needed a demonstration, especially if one is trying to understand how brain nuclei and cortical-subcortical circuits cooperate in order to produce the blockade of paroxysmic epileptic hypersynchronism, associated to the endogenous anticonvulsant systems involving basal ganglia (Depaulis *et al.*, 1984; Garcia-Cairasco *et al.*, 1997; Deransart and Depaulis, 2002; Rossetti *et al.*, 2006; Dal-Col *et al.*, 2008). Despite our small number of animals, we can speculate that in the classic experiments (Garant and Gale, 1983; Garant and Gale, 1986); based on inhibition of SNPr, that the increase in the striatum firing rate was also present. This simultaneous SNPr and striatum activity has never been proved by the lack of specific electrophysiological protocols. Differently, from the 1980's decade, there is now the technological availability of thin (50 microns or less) multielectrode arrays for firing rate detection and spike sorting analysis, which is suitable for pursuing the still unanswered questions within the endogenous anticonvulsant systems. At present time, the manipulation of substantia nigra aiming seizure control seemed suitable for translational application into human patients in some cases (for review, see Giacopo *et al.*, 2019). High-frequency deep brain stimulation (DBS) of the transitional zone between the subthalamic nucleus (STN) and the SNPr has provided promising results in the treatment of patients with progressive myoclonic epilepsy (PME) (Giacopo *et al.*, 2019). But, as stated by Vuong and Devergnas (2018), the effect of trying to control seizures by deep brain stimulation in basal ganglia can be considered promising with a 76% in seizure reduction in temporal lobe epilepsy patients, but also disappointing, since only few patients have become seizure free and the antiepileptic effects have been highly variable among patients. New and non-invasive approaches to control refractory epilepsy should be developed and have better overall results, as they do not involve surgery procedures. Some research in this line is under construction in our laboratory (data not shown).

Conclusions: HSF in the striatum can induce long lasting increases in general motor activity but not stereotypy; behavioral changes were independent of increased or decreased evoked potential recorded in nigra; nigra's inhibition increased the firing rate of striatum. Present study give support

to new experiments with HFS in striatum to try to antagonize behavior rigidity and hypokinesia of diseases involving the basal ganglia, especially Parkinson's disease.

References

- Bliss, T. V., & Collingridge, G. L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361(6407), 31-39.
- Bolam, J. P., Hanley, J. J., Booth, P. A. C., & Bevan, M. D. (2000). Synaptic organisation of the basal ganglia. *Journal of anatomy*, 196(04), 527-542.
- Calabresi, P., Maj, R., Pisani, A., Mercuri, N. B., & Bernardi, G. (1992). Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *Journal of Neuroscience*, 12(11), 4224-4233.
- Cavalheiro, E. A., & Turski, L. (1986). Intrastriatal N-methyl-D-aspartate prevents amygdala kindled seizures in rats. *Brain research*, 377(1), 173-176.
- Chevalier, G., Vacher, S., Deniau, J. M., & Desban, M. (1985). Disinhibition as a basic process in the expression of striatal functions. I. The striato-nigral influence on tecto-spinal/tecto-diencephalic neurons. *Brain research*, 334(2), 215-226.
- Dal-Cól, M. L. C., Bertti, P., Terra-Bustamante, V. C., Velasco, T. R., Rodrigues, M. C. A., Wichert-Ana, L., ... & Garcia-Cairasco, N. (2008). Is dystonic posturing during temporal lobe epileptic seizures the expression of an endogenous anticonvulsant system?. *Epilepsy & Behavior*, 12(1), 39- 48.
- Delfs, J. M.; Kelley, A. E. The role of D1 and D2 dopamine receptors in oral stereotypy induced by dopaminergic stimulation of the ventrolateral striatum. *Neuroscience*, v. 39, n. 1, p. 59-67, 1990.
- Deniau, J. M., Chevalier, G. (1985). Disinhibition as a basic process in the expression of striatal functions. II. The striato-nigral influence on thalamocortical cells of the ventromedial thalamic nucleus. *Brain research*, 334(2), 227-233.
- Depaulis, A; Vergnes, M., Marescaux, C. "Endogenous control of epilepsy: the nigral inhibitory system." *Progress in neurobiology* 42.1 (1994): 33-52.
- Deransart, C., & Depaulis, A. (2002). The control of seizures by the basal ganglia? A review of experimental data. *Epileptic disorders*, 4(3), 61-72.
- Garant, D. S., & Gale, K. (1987). Substantia nigra-mediated anticonvulsant actions: role of nigral output pathways. *Experimental neurology*, 97(1), 143-159.
- Garant, D. S., Gale, K. "Lesions of substantia nigra protect against experimentally induced seizures." *Brain research* 273.1 (1983): 156-161
- Garant, D., Gale, K. "Intranigral muscimol attenuates electrographic signs of seizure activity induced by intravenous bicuculline in rats." *European journal of pharmacology* 124.3 (1986): 365-369.
- Garcia-Cairasco, N., Miguel, E. C., Rauch, S. L., & Leckman, J. F. (1997). Current controversies and future directions in basal ganglia research: integrating basic neuroscience and clinical investigation.

Psychiatric Clinics of North America, 20(4), 945-962.

Garcia-Cairasco, N., Umeoka, E. H., & de Oliveira, J. A. C. (2017). The Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain and its contributions to epileptology and related comorbidities: History and perspectives. *Epilepsy & Behavior*, 71, 250-273.

Giacopo, A., Baumann, C. R., Kurthen, M., Capecchi, F., Sürücü, O., & Imbach, L. L. (2019). Selective deep brain stimulation in the substantia nigra reduces myoclonus in progressive myoclonic epilepsy: a novel observation and short review of the literature. *Epileptic Disorders*, 21(3), 283-288.

Kahane, P., & Depaulis, A. (2010). Deep brain stimulation in epilepsy: what is next?. *Current opinion in neurology*, 23(2), 177-182.

Kita, H., & Kitai, S. T. (1988). Glutamate decarboxylase immunoreactive neurons in rat neostriatum: their morphological types and populations. *Brain research*, 447(2), 346-352.

Partridge, J. G., Tang, K. C., & Lovinger, D. M. (2000). Regional and postnatal heterogeneity of activity-dependent long-term changes in synaptic efficacy in the dorsal striatum. *Journal of Neurophysiology*, 84(3), 1422-1429.

Paxinos, G., Watson, C. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego, CA: Academic Press.

Reynolds, J. N. J., & Wickens, J. R. (2000). Substantia nigra dopamine regulates synaptic plasticity and membrane potential fluctuations in the rat neostriatum, in vivo. *Neuroscience*, 99(2), 199-203.

Rossetti, F., Rodrigues, M. C. A., de Oliveira, J. A. C., & Garcia-Cairasco, N. (2006). EEG wavelet analyses of the striatum–substantia nigra pars reticulata–superior colliculus circuitry: audiogenic seizures and anticonvulsant drug administration in Wistar audiogenic rats (WAR strain). *Epilepsy research*, 72(2-3), 192-208.

Rossetti, F., Rodrigues, M. C. A., de Oliveira, J. A. C., & Garcia-Cairasco, N. (2011). Behavioral and EEG effects of GABAergic manipulation of the nigroreticular pathway in the Wistar audiogenic rat strain. *Epilepsy & Behavior*, 22(2), 191-199.

Smith, Y., Bennett, B. D., Bolam, J. P., Parent, A., & Sadikot, A. F. (1994). Synaptic relationships between dopaminergic afferents and cortical or thalamic input in the sensorimotor territory of the striatum in monkey. *Journal of Comparative Neurology*, 344(1), 1-19.

Turski, L., Cavalheiro, E. A., Calderazzo-Filho, L. S., Bortolotto, Z. A. Klockgether, T., Ikonomidou, C., & Turski, W. A. (1989). The basal ganglia, the deep prepyriform cortex, and seizure spread: bicuculline is anticonvulsant in the rat striatum. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(5), 1694-1697.

Turski, L., Cavalheiro, E. A., Schwarz, M., Turski, W. A., de Moraes Mello, L. E., Bortolotto, Z. A., ... & Sontag, K. H. (1986a). Susceptibility to seizures produced by pilocarpine in rats after microinjection of isoniazid or γ -vinyl-GABA into the substantia nigra. *Brain research*, 370(2), 294-309.

Turski, L., Cavalheiro, E. A., Turski, W. A., & Meldrum, B. S. (1986b). Excitatory neurotransmission

within substantia nigra pars reticulata regulates threshold for seizures produced by pilocarpine in rats: effects of intranigral 2-amino-7-phosphonoheptanoate and N-methyl-D-aspartate. *Neuroscience*, 18(1), 61-77.

Vuong, J., Devergnas, A. (2018). The role of the basal ganglia in the control of seizure. *Journal of Neural Transmission*, 125(3), 531-545.

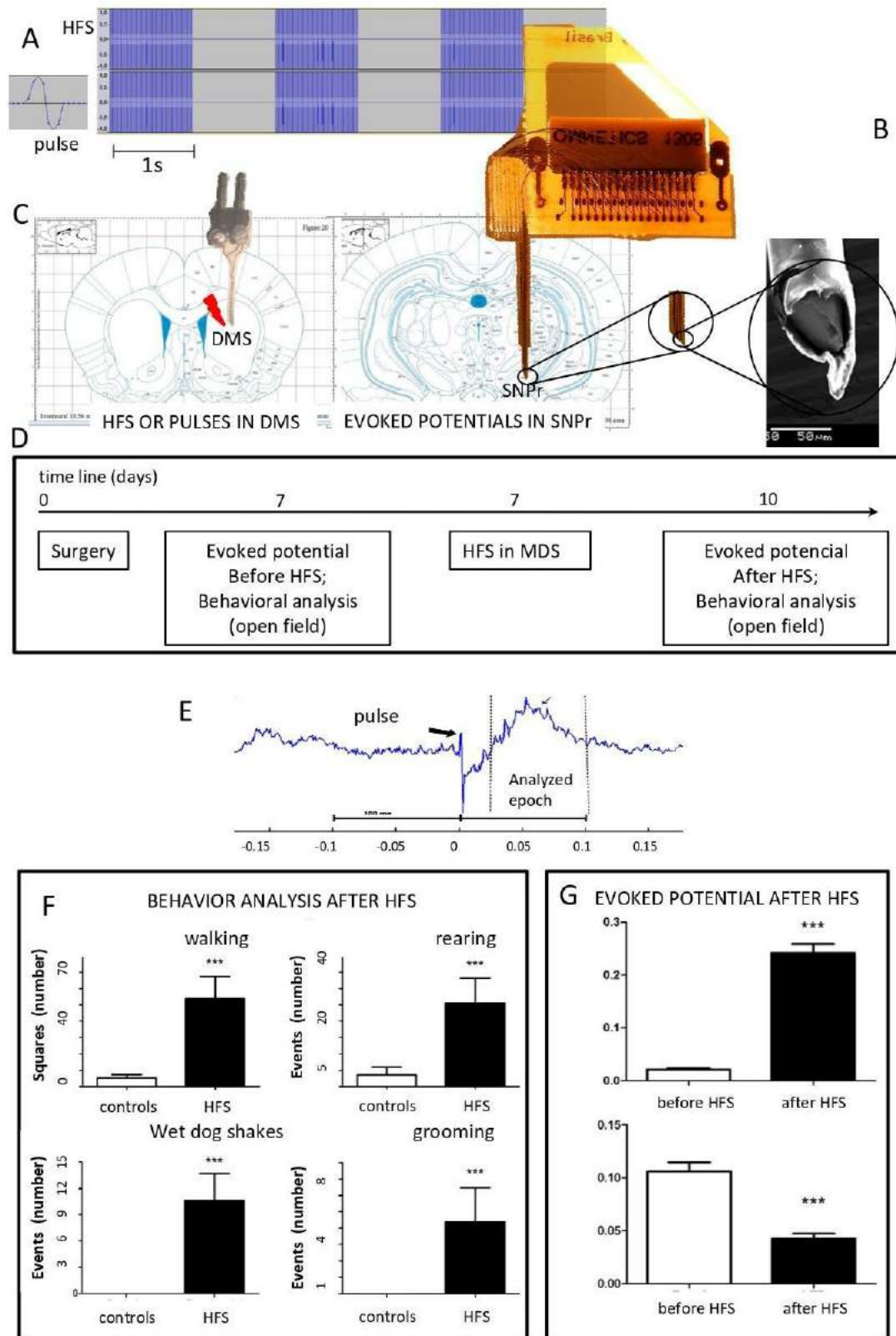


Figure 1. HFS stimulation in dorsomedial striatum, used in the First and Second Experiments. **A** **bottom.** Single bipolar pulse. **A right.** Three trains of HFS with 1 s duration each and 1 s intervals. **B.** Tungsten recording electrodes polyamide coated except in the tip, were inserted in the left SNPr. These were soldered to a printed circuit board made in the lab, and this one was plugged into an Omnetics connector, and then into the TDT biocamp processor RZ2S3 series. In Figure **B bottom** there is an electron microscopy (made in the Physical Department, UFPE), demonstrating that the tip of the electrode has 50 μm , and is not coated at the tip. **C.** Histological positioning of the electrodes of the Second Experiment. Stainless steel stimulation electrode (100 μm), teflon coated except in the tip, was introduced stereotaxically into the dorsomedial striatum (DMS). The recording electrode was in substantia nigra. **D.** Timeline. Surgery was made on day 0. After a 7 days recovery period, rats were recorded for behavioral analysis and also evoked potentials, both before HFS. Then, on the same day, HFS was applied for the first time into de mediodorsal striatum (HFS in DMS). Three days later (10 after surgery), behavioral analysis (after HFS) and evoked potential were done. **E.** Typical recording of evoked potential (Second Experiment). This was stimulated in striatum and recorded in nigra. The stimulating pulse was used as a marker. 100 ms before and 100 ms after the pulses, the recordings were promediated 18 times (an average of 30 pulses was averaged for 5 min). The 20 ms just after the pulse were discarded to avoid the inclusion of a non-biological response. The analyzed epoch consisted of 80 ms, initiating 20 ms after the stimulating pulse. An additional statistical analysis regarding these evoked potentials was based on z-score, using the 100 ms before pulse as a reference. Only evoked responses with a z-score greater than 2 standard deviations (generally 4 or 5) were included in the analysis. This procedure guarantees that there was a genuine and biologically-based evoked response, with a very small probability of being the same before and after pulse, and not only electronic artifacts. **F.** Behavioral results (First Experiment). When compared to the period before HFS, all rats had a substantial increase in behavioral expression, including walking, rearing, *wet dog shakes* and grooming. **G.** Evoked potential results (Second Experiment). Some rats had an increase in nigra's evoked potential, and some had a decrease (about 50% each), independent of the same increase in mobility behavior. Our hypothesis was that behavior expression would vary correspondingly with the evoked potential. But this was not confirmed. DMS: dorsomedial striatum; SNPr: substantia nigra pars reticulata.

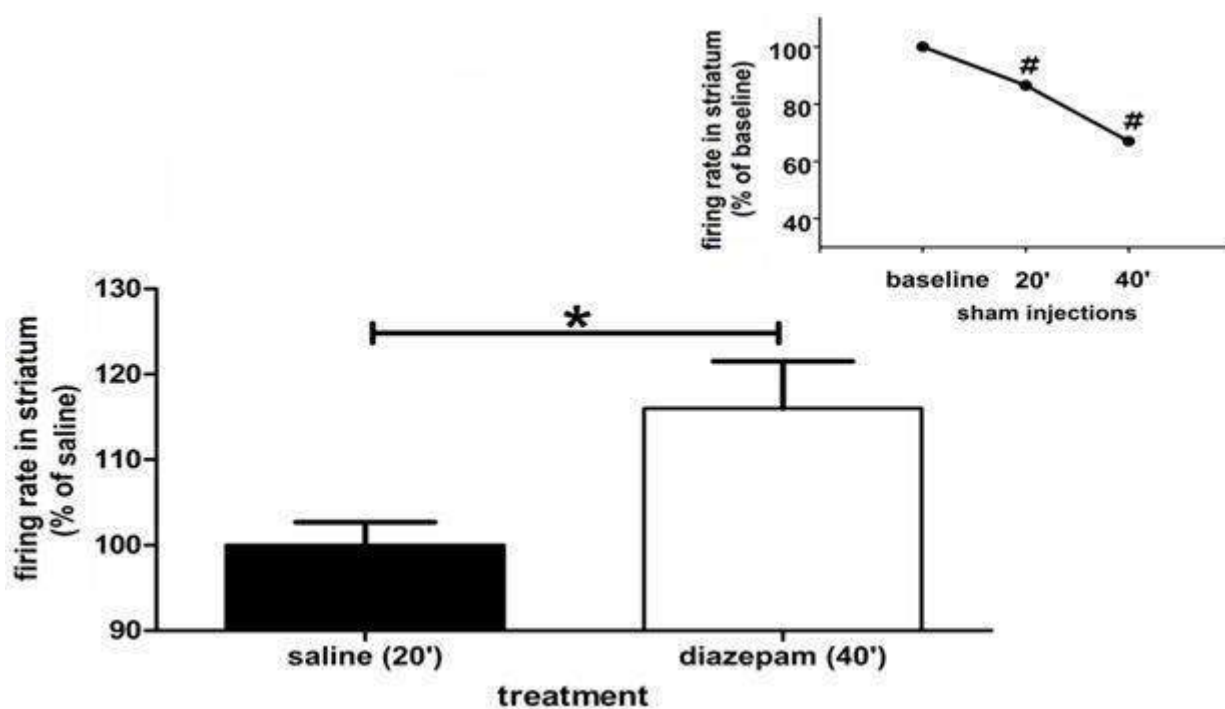


Figure 2. Firing rate in the striatum under SNPr inhibition. Bilateral microinjection of diazepam in SNPr increased striatum firing rate compared to 20' min saline injection block (*: $p < 0,05$, Mann-Whitney). In sham controls with no real microinjection, it could be seen a decrease in the firing rate of striatum in the 20' and 40' recording period compared to the baseline of the group (inset, #: $p < 0,05$, Wilcoxon paired test). Data for each group were the average and standard error of the mean of all rats included in the analysis, normalized to each firing rate in basal recordings.

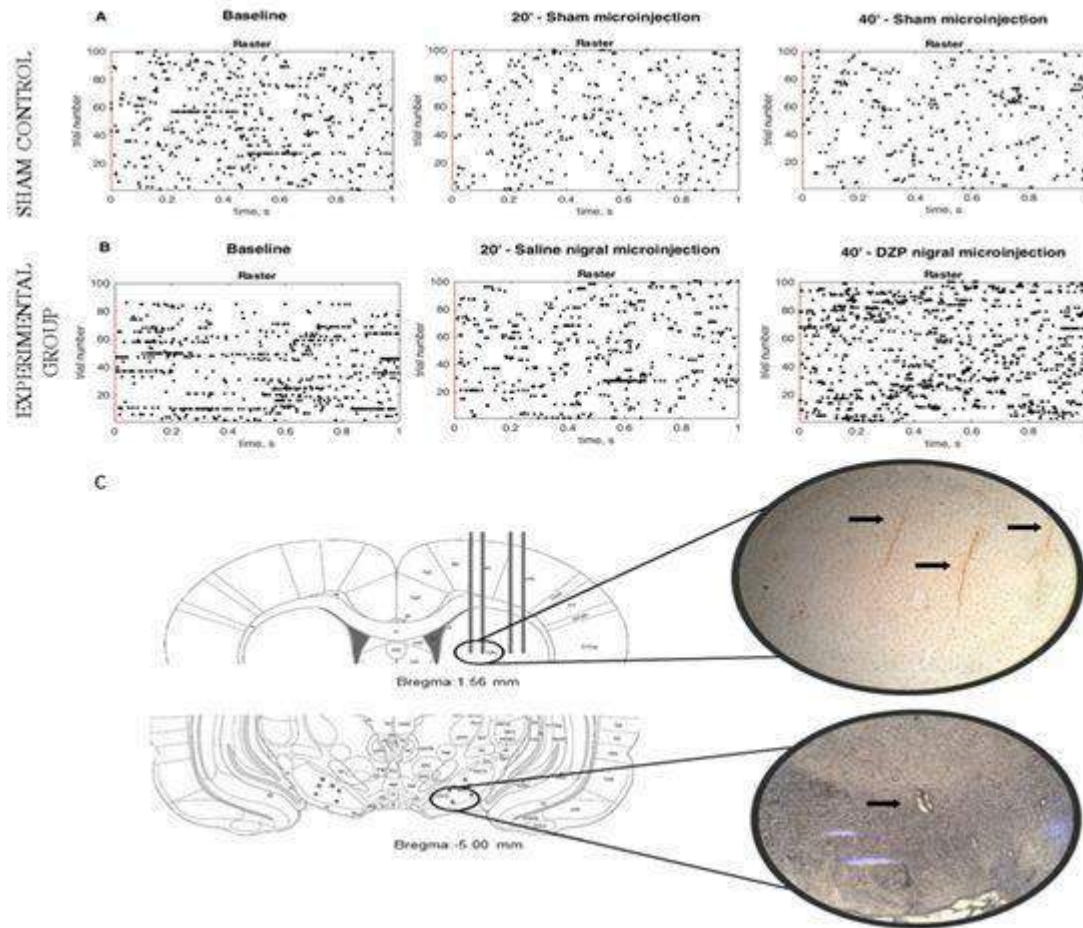


Figure 3. **A)** Firing rate in the striatum under in sham control, it could be seen a decrease in the firing rate of striatum; **B)** Firing rate in the striatum in experimental conditions showed that after microinjection of diazepam in SNPr increased striatum firing rate. **C)** Histological positioning. Striatum multielectrode arrays. It is shown a schematic image based on Paxinos and Watson Atlas (1986) (Bregma + 1,56 mm), and IBA1 immunohistochemistry with diaminobenzidine (DAB), for the location of the microarray (top circle). SNPr position of microinjections, shown in schematic representation (based on the same atlas, Bregma – 5,00 mm), and injection cannulae placement (non-processed slice for IBA1, bottom circle).

**ANEXO B – ARTIGO CIENTÍFICO DE COLABORAÇÃO “THE FUNCTIONAL NEUROMETRY
OF NELSON ALVES PEREIRA JÚNIOR: AN ADVANCED METHOD OF MAPPING AND
BIOFEEDBACK TRAINING OF THE AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM FUNCTIONS”
PUBLICADO NA “JOURNAL OF PSYCHOLOGY AND PSYCHOTHERAPY RESEARCH”**

The Functional Neurometry of Nelson Alves Pereira Júnior: An Advanced Method of Mapping and Biofeedback Training of the Autonomic Nervous System Functions

Valdenilson Ribeiro Ribas^{1*}, Renata de Melo Guerra Ribas², Marcelo Tavares Viana³, José Marcos da Silva Dias⁴, Ivan Rafael Reis e Silva Cavalcanti⁵, Marcelo Cairrão Araujo Rodrigues⁶, Igor Tchaikovsky Mello de Oliveira⁷, Nery Adamy Neto⁸, Ricardo Jorge Consuel Pessoa⁹ and Hugo André de Lima Martins¹⁰

¹Psychologist, PhD in Neuropsychiatry, UFPE, Brazil ²Nutritionist,

Expert in Phytotherapy, UFPE and IDE, Brazil ³Physical

Education Professional, PhD in Nutrition, UFPE, Brazil

⁴Graduation in Pedagogy, Specialist in Neuroscience, FAJOLCA and UFPE, Brazil

⁵Physiotherapist, Specialist in Osteopathy, Faculdade Maurício de Nassau and EBOM, Brazil

⁶Graduated in Biological Sciences, PhD in Psychobiology, UFSP and USP, Brazil ⁷Biomedical, PhD student in Neuropsychiatry, UFPE, Brazil

⁸Graduated in Pedagogy, Master of Science in Education, FEP, Paraguay

⁹Physician, UPE, Brazil

¹⁰Physician, PhD in Neuropsychiatry, UFPE, Brazil

Abstract: *Introduction:* Functional Neurometry makes Biofeedback tools already demonstrated in the literature, such as: galvanic skin response, cardiac coherence and variability, thermoregulatory and respiratory interact with each other.

Objective: The aim of this study was to report the historical and methodological aspects of the Functional Neurometry protocols.

Method: A review was made in the MEDLINE / PubMed electronic indexing database and in the Web of Science.

Results: This method intends to synchronize the frequencies of various organs linked to the autonomic nervous system (ANS) to control anxiety. Assessment and training are organized into categories. The categories of the assessment protocol are: 1st) Anxiety Control; 2nd) Physiological Response; 3rd) Baroreflex Index; 4th) hemodynamics; and 5th) Brain Neurometry and the training protocol categories are: I) Sound Anxiety Control; II) Visual Anxiety Control; III) Emotional Variability; IV) Respiratory Amplitude and Frequency; V) Progressive Muscle Relaxation; VI) Functional Physiological Response; VII) Respiratory Functional Capacity; VIII) Heart Rate Variability and IV) Cardiac Coherence.

Conclusion: Functional neurometry mainly allows the balance of the ANS, making it a protective filter of the central nervous system.

Keywords: Functional neurometry, Biofeedback, Autonomic nervous system.

INTRODUCTION

Biofeedback: A Brief History

During this narrative review study, there was no official record of a single author who first used biofeedback. In fact, the constitution of this

methodology seems to have arisen from people scattered around the world [1-6], who had access to the tools at the beginning of the technological evolution which, from an economic point of view, was not viable for most professionals and added the idea that only through blood collection could health science be, there was a delay in its progress [7].

It seems relevant to mention some names that were part of the beginning of the journey of this methodology. In the United States, there is a consensus [7-9], that Barbara Brown, a Veterans Administration (VA) electroencephalography (EEG)

*Address correspondence to this author at the Psychologist, PhD in Neuropsychiatry, UFPE, Brazil; Tel: +55 81 99986-4399; E-mail: ribas.professor@gmail.com / <https://instituto docerebro de pernambuco.org>

Study conducted in the Pernambuco Brain Institute // Instituto do Cérebro de Pernambuco (ICERPE) and in the postgraduate degree in Neuropsychiatry and Behavioral Sciences, Federal University of Pernambuco (UFPE).

researcher, has had an official participation in the history of Biofeedback methodology for organizing a 1969 meeting in Santa Monica, California to discuss whether it would be interesting to name this methodological experience as self-regulation and to merge with the term meditative self-regulatory practices that had existed for millennia [7], although the meditative techniques did not present immediately feedback through some equipment, which would quantify and tell, if really, the individual was doing right or wrong during the training [10].

In addition to the clear difference already cited between what would be called biofeedback and meditation, there are reports that someone in the audience said aloud that the term self-regulation would sound like government car control [7, 11]. From a simple naïve and spontaneous comment, the present scientists agreed on the term Biofeedback and thus the Biofeedback Research Society (BRS) [7] was born [12].

Due to the existence of an interdisciplinary wealth, from the beginning, many scientists saw, among other equipment, the electroencephalogram (EEG), as a tool to discover the language of consciousness and even called it technologically controlled meditation [7]. Thus, came the same time, the Neurofeedback.

Neurofeedback was discovered by an American Psychologist from Chicago / USA, who is of Japanese descent named Joseph Kamiya, when he published his experiments with Alpha brainwaves (8-12 Hz) in the Scientific Journal *Psychology Today* in 1968 [5, 13]. However, the increased visibility of neurofeedback came when another scientist named Barry Sterman, Professor of Psychiatry and Behavioral Sciences at the University of California, Los Angeles / USA, was challenged by NASA scientists who delivered low doses around 4-8 mg / kg of a substance called monomethylhydrazine in cats to induce seizures [14]. Sterman trained increasing the cat's sensorimotor rhythm amplitude (12-16 Hz) at the central point in the upper brain, called the vertex, linked to the thalamus and basal ganglia, and this increase allowed the animal to no longer have convulsion, even with hydrazine administered at the above dose [15].

At the same time, experiments and demonstrations of voluntary controls of autonomic responses took place in the face of discussions as to whether Skinner Operant Conditioning was possible or not [16-18]. However, it was realized, in fact, that what is not

possible to train by Burrhus Operant Conditioning Frederic Skinner (1904-1990) [19], is possible to train by Ivan Petrovich Pavlov's Classic Conditioning (1849- 1936) [20], above all, what the individual cannot directly control, such as hormones, neurotransmitters, brain or motor electrical activities [21].

But even unofficially, it is known that Biofeedback was born well before the official meeting, which decided on the appropriate name for the method organized by Barbara Brown [7]. Doctor Edmund Jacobson was one of the first to monitor his patients' electromyography (EMG) to document that their muscles were relaxed, and thus progressive relaxation was born [22].

However, the advancement of progressive relaxation in the scientific community occurred when South African Psychiatrist Joseph Wolpe [23] incorporated an abbreviated version of this procedure into his method of systematic desensitization [24]. Wolpe introduced the principle of reciprocal inhibition, used in Ivan Pavlov's Reflexive Learning (Classical Conditioning) [20], whose idea was structured as follows:

"If an opposite response to that which causes anxiety is sent before stimuli that caused the reaction, the association between these stimuli and anxiety decreases" [25].

In the 1950s, Wolpe adjusted Pavlov's principle of reciprocal inhibition to suit human needs and introduced the concept of Systematic Desensitization as an appropriate way to treat phobias [23] and, noting that physiology when anxiety, fear, panic and phobia were the same, it incorporated progressive relaxation, because in many patients the manifestation of anxious symptoms occurred in the expression of muscle stiffness [26].

Possibly, the idea of Biofeedback, not of the word (method name) but of the function [27], arose from simple reasoning that compares symptom and sign [28]. While the symptom is subjective, that is, it cannot be measured, as is the case of pain, the sign, unlike the symptom, is objective and can be measured, such as body temperature by a thermometer and blood pressure by a sphygmomanometer [29].

Hereupon, all biofeedback functions worked were structured in the deductive logic (if, then) [30] linked directly to the binary reasoning, that is, if increasing the

body temperature and reaching 38° C, means that the individual has a fever, if its blood pressure is 16/10, it means it has hypertension, until recently neuroscientist Nelson Alves Pereira Júnior developed a biofeedback method [31] with a quaternary reasoning, which he named Functional Neurometry [32].

What made Nelson Alves Pereira Júnior change the basis of his reasoning was the fact that he observed that some patients with depression, for example, had amounts of serotonin in values considered normal. Thus, he realized, that the problem could be in the way, as in the low activation of serotonergic innervation, which could be as a result of a blockage in autonomic functions by depression of sympathetic and parasympathetic receptors, affecting the transport of oxygen to mitochondria.

Thus, Nelson Alves Pereira Júnior thought about measuring the frequencies of the autonomic nervous system (sympathetic and parasympathetic) and stimulating them with nutritional treatments and respiratory training.

METHODS

A review was performed in the MEDLINE / PubMed electronic indexing database and in the Web of Science in order to report the historical and methodological aspects of Functional Neurometry protocols in the textual format of a narrative review.

The Functional Neurometry of Nelson Alves Pereira Júnior is a multimodal methodology; that is, it enables

the biofeedback tools already studied and demonstrated in the scientific community literature to interact with each other. Among these biofeedback equipment's the following stand out: galvanic skin response [33], cardiac coherence instrument [34], historical range and variability (HRV) [35], thermoregulators [36], respiratory rate meter [37], heart rate meter [38] and predominance of brain frequency by neural resonance [39] (Figure 1).

Thus, the applied neuroscience professional [40], who intends to use the functional neurometry method of Nelson Alves Pereira Júnior, soon after the evaluation, may do it correlating to the efficiency of the nutritional intake, including, with the use of supplements [41] with the need for computerized respiratory training, such as: respiratory amplitude training [42], respiratory rate training [43] and respiratory functional capacity training [44] with real-time feedbacks functioning as mirrors [32, 45].

Equipment Specifications that Enable Evaluation and Training Protocols

The software developed by Nelson at the Brazilian Society of Functional Neurometry for real time acquisition, processing, display, recording and reproduction of biological signals was named BIOEVOLUTION [46]. This software allows the user to graphically assemble a configuration to process raw signals from the amplifier called ENCODER [31], interconnecting various processing, display, and audio objects for biofeedback [46].

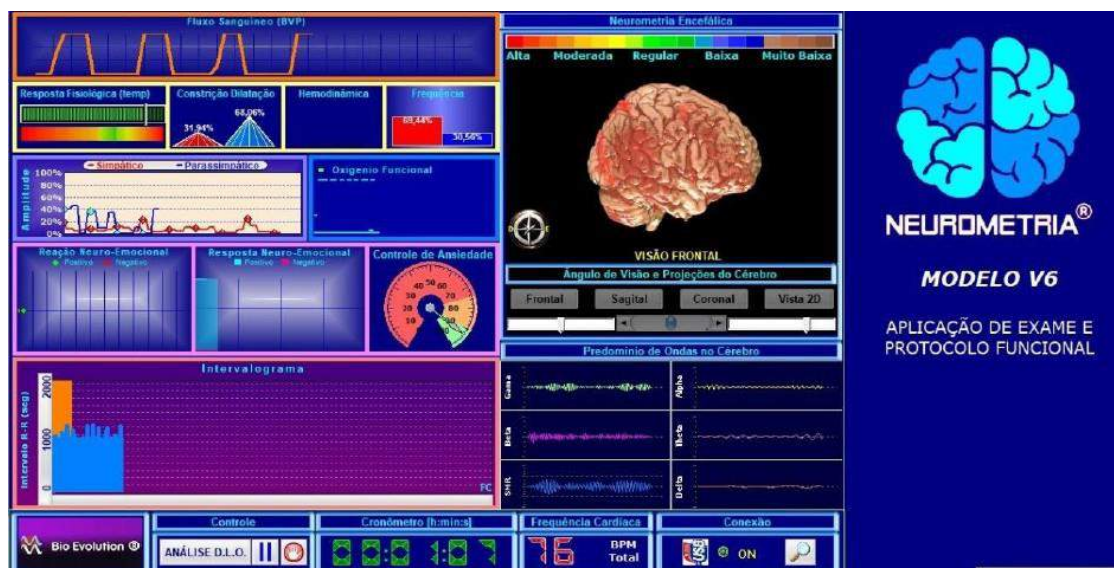


Figure 1: Photographic demonstration of the BioEvolution program template in portuguese language.

ENCODER is an amplifier, which emerged from the idea of the Einthoven Galvanometer [47]. The word galvanometer emerged as a neologism after the creation of the detector for radiation measurement by Leopoldo Nobili (1784-1835) [13]. Leopoldo Nobili (1784-1835) named his invention of galvanometer with the intention of saying that he agreed with Luigi Galvani (1737-1798), who was the first scientist to claim that there was electrical energy within human bodies, despite insistent disagreements of the Physicist Alessandro Giuseppe Antonio Anastasio Volta (1745- 1832). However, it was Willem Einthoven (1860-1927), who made it possible to improve the galvanometers, directing them to the purposes of medicine, especially in the refining and reliability of diagnoses of Cardiology and Neurology, which earned him the Nobel Prize in medicine in 1912 [13, 48].

It is obvious that the architecture of a conventional galvanometer is that of an artisanal analog device, made up of rudimentary structures from the initial ideas of the Estonian Thomas Seebeck in 1821 [49]. Seebeck discovered thermoelectricity by experimenting on this instrument consisting of a current around a ring, that is, a coil, composed of two metal semicircles, made of bismuth and copper, with one of the heated junctions, assembled in series, alternating the hot and cold junctions [49].

However, ENCODER is a very advanced device even today, whose amplifiers are based on transistors and not coils [48]. ENCODER is an Einthoven galvanometer only from a conceptual point of view and ENCODER is a complex amplifier in the technological sense. The voltage that arrives at these amplifiers is routed to a circuit that digitizes the signal (called the A/D converter) and then sends it to a switch (switch or switch, which is a device used in computer networks to reroute packets). (frames) between the various nodes [47].

The commutator has ports, just like hubs, and the main difference is that the switch is segmenting the network internally and each port corresponds to a specific collision domain, thus eliminating collision between different segment packets [48].

However, it seems relevant to emphasize that the concept of the galvanometer and the amplifier is the same, but the technology is absurdly different. In the old days, when the computer system did not exist, the only way to record the biological signal was in a printed medium. Thus, there was a need to obtain an

instrument that would transform the electric energy through the movement of a certain pointer [48].

ENCODER Enclosure

The weight of the ENCODER enclosure is 200 grams, size: 26.5 x 60.7 x 204 mm, powered by Type USB Port with 6-channel connector operation [46].

Description of sensors that connect to ENCODER with right-to-left observer view in front of the equipment: 1) Functional Respiratory Sensor - has a size (approx.): 1.8 meters x 14 mm² cable and 13.5x1 ferrule, 5 cm, weight: 65 g, range: 30% - 65%, input range with unit displayed as 0% - 100% and $\pm 3\%$ accuracy; 2) Physiological Response Sensor - has size (approx.) Of 1.80 meters x 14 mm² cable and ferrule 11.5x1.5 cm, weight (approx.) 65g, temperature range 10 °C - 40 °C (50 °F - 104 °F) and accuracy of ± 1.0 °C (± 1.8 °F) 20 °C - 40 °C (68 °F - 104 °F) [32].

BIOEVOLUTION Specifications

The general characteristics of BIOEVOLUTION are: 6 (six) channel equipment with a size of approximately 210 x 60 x 30 mm, weight of approximately 650 grams, sensor length from 1.80 to 2.50 meters electrode connection with own clamping system or disposable electrode, with input signal range from 0 to + 500mV, with DC channel input value 5 Volts at 0.01 A, ADC output: 14 bits, with sampling rate of 3 2048 Hz channels and 3 256 Hz channels (samples / second), noise: <1 UV RMS (1-64 Hz freq. Interval), input impedance > 10 ¹⁰ Ohm and (typical) CMRR > 130 dB, safety isolation: 1500 V, accuracy: + - 2% (initial or after self-calibration), with USB type connector (1 to 3 meters) not connected to mains only to computer, with external power supply, whose USB connection, makes use of the computer battery with frequency of 60 Hz [46].

The classification and conformity of every product according to the Brazilian standard NBR IEC 60601 [50] established by the Brazilian Association of Technical Standards; equipment powered by the computer's USB port in battery mode. It has a type of protection against electric shock called Class II equipment with degree of protection against electric shock: Type BF applied part, degree of protection against harmful water penetration: IPX0, degree of application safety in the presence of a flammable anesthetic mixture with air, oxygen or nitrous oxide: not suitable (not for use on equipment) with continuous mode of operation [32].

General Clinical Analysis using Functional Neurometry of Nelson Alves Pereira Júnior*

Sigmund Freud, before proposing psychoanalysis, had an academic background in Neurology [51]. Thus, he thought as follows: Just as the immune system defends the body of humans from pathogens (viruses, bacteria and fungi), the mind must exert a defense of some phenomenon as well [51, 52].

Even Freud being a neurologist, his question was not whether the nervous system could exert a defense, but whether the mind could exert that defense [51], because his investigation would not be about the functional mechanism of palpable nerve cells, but, his investigation was about the functioning of the psyche [53].

After that Freud came to the conclusion that our mind defended us from "anxiety" [54]. Thus, while pathogens threaten the homeostatic balance of the organism, anxiety threatens the mental equilibrium and with the same viewpoint of positivist science [55], which was his basis of initial training as a scientist, Freud described the mechanisms of psychic defenses based on the structure of the mechanism of immune defenses [56].

In this sense, Freud started from the premise that just as there are names for lymphoid immune defenses (Natural Killer, B-Cell and T-Cell) [57] that defuse viruses and myeloid (Macrophages, Neutrophils, Basophils and Eosinophils) [58] to combat bacteria, allergies and parasites, so it is possible to propose names for psychic defenses [51].

Thus, he presented the names and described the functioning of each psychic defense, as mental forms that the human being has to calm anxiety [51, 54]. Among the main psychic defenses are: rationalization, reactive formation, sublimation, regression, repression, projection, transference, displacement, among others [59, 60].

Just as Freud was concerned with anxiety control [54] and built his ideas about the psyche based on tangible concrete by comparing them to the functioning

of the immune system, Nelson Alves Pereira Júnior was also concerned with the control of anxiety, but this time trying to understand how the autonomic nervous system could do this control [61], protecting the central nervous system and organizing the Functional Neurometry method, and now on a path by substitution by comparison to Freudian thought.

From the metaphorical substitution between software / hardware and mind / nervous system, Nelson Alves Pereira Júnior thought: if it is possible to control anxiety by the mind, then what are the mechanisms of functioning via the autonomic nervous system? And Nelson Alves thought further, when he came out of binary Cartesian thinking and dared to introduce the form of quaternary inquiry, thus turning his method of Functional Neurometry into a systemic look of the human being, because it gives off a unique idea that a The depressive process, for example, is defined only by serotonin depletion in the synaptic cleft, which makes it possible for the health professional to "get out of the box" and think according to the statistical manual of mental illness number 5, which attributes multifactorial etiology to the patient with depression, such as: psychological [62], environmental [62], biological [48, 63, 64] and / or genetic [65].

RESULTS

Presentation of Functional Neurometry Assessment and Training Protocols by Nelson Alves Pereira Júnior

Nelson Alves Pereira Júnior's method of functional neurometry uses the idea of measurement and the search for frequency synchronization produced by various organic systems that enable the functioning of the sympathetic autonomic nervous system (ANS), expressed in the frequency bands **0.01** to **0.04** Hz and from **0.04** to **0.20** Hz [66] or parasympathetic expressed in **0.20** to **0.50** Hz [67] over the same time period or in the frequency domain, establishing a coherence that will enable an ideal condition to control the anxiety of the patient [68].

In this sense, the evaluation and training of the ANS were organized in protocols separated into categories [46]. Thus, Nelson Alves Pereira Júnior established that the evaluation would take place in three positions (dorsal decubitus, stand up and orthostatic) and the categories of this initial investigative protocol or evaluation protocol were called: 1^a) ANXIETY CONTROL; 2^a) PHYSIOLOGICAL RESPONSE; 3^a)

* Nelson Alves Pereira Júnior has a degree in Dentistry from the University of Santo Amaro / São Paulo, Brazil (UNISA), Specialist in Biochemical Medicine and Behavioral Medicine by the Federal University of São Paulo / SP, Brazil (UNIFESP), in Neuroscience by the Brain and Cognitive Sciences / USA, Cellular and Orthomolecular Nutrition, Pathology and Clinical Analysis, Genetics: Nutrigenetics and Nutrigenomics by the UNILEYA (Europe) and Programming Logic and Software Source Code - Borland, Austin, Texas / USA.

BAROREFLEX INDEX; 4ª) HEMODYNAMICS (BLOOD FLOW); and 5ª) ENCEPHALIC NEUROMETRY [32].

Regarding the categories of the training protocol, Nelson Alves Pereira Júnior organized them in the following sequence: I) Control of Sound Anxiety; II) Control of Visual Anxiety; III) Emotional Variability; IV) Respiratory Amplitude and Frequency; V) Progressive Muscle Relaxation; VI) Functional Physiological Response; VII) Respiratory Functional Capacity; VIII) Heart Rate Variability and IV) Cardiac coherence [69, 70].

The algorithms of the above protocols are shielded in the centers of their programs and all were constituted by the Fourier Series and Transforms [71] in order to identify synchrony between all signals of the autonomic nervous system, which are intersect at the same point, characterizing them as periodic signs [72]. This is a sum or overlap of several frequencies that have multiple frequencies [73] or, when there is no exact synchronization, the use of coefficients of the Discrete Fourier Transform (DFT) allowing an approximation to the Fourier Series (FS) coefficients [74].

EVALUATION PROTOCOL CATEGORIES

1ª) Anxiety Control

Anxiety control (Figure 2) is measured by galvanic skin response in the functional neurometry method of

Nelson Alves Pereira Júnior [75]. For this, Nelson used sweat gland activity to indirectly measure electrical activity or electrodermal resistance [76], because sweat contains salt, which increases electrical conductivity [77]; In this sense, since sweaty skin has greater electrical conduction [27], Nelson inferred that, with more sweat, especially in the dorsal decubitus position, at rest, the suprarenal of an individual no longer predisposes a lot of stored energy, which enable him to fight and / or to escape or to control anxiety [46].

Usually, galvanic skin response instruments apply a very small electrical voltage to the skin [76], specifically on the palmar or volar surface of the fingers [75], where there are many sweat glands measuring the impedance of the electric current in microohm units [78]. Measuring skin conductance is a useful technique in stimulated psychophysiological assessment and is most often used as a lie detector [79].

The calculation of the anxiety control category is performed through a scale established within logical principles agreed in a score table from 0 to 100% [46], which can be measured by energy level provided by the functional reserve (amino acids, proteins, vitamins, complex carbohydrates, lipids and minerals) already absorbed by the enterocytes and already stored in glycogen format in the liver [80], awaiting the need for the passage to blood flow through glycogenolysis [81] to enable the process of fight and flight against external stimuli or even internal stimuli caused by human thought itself [82].

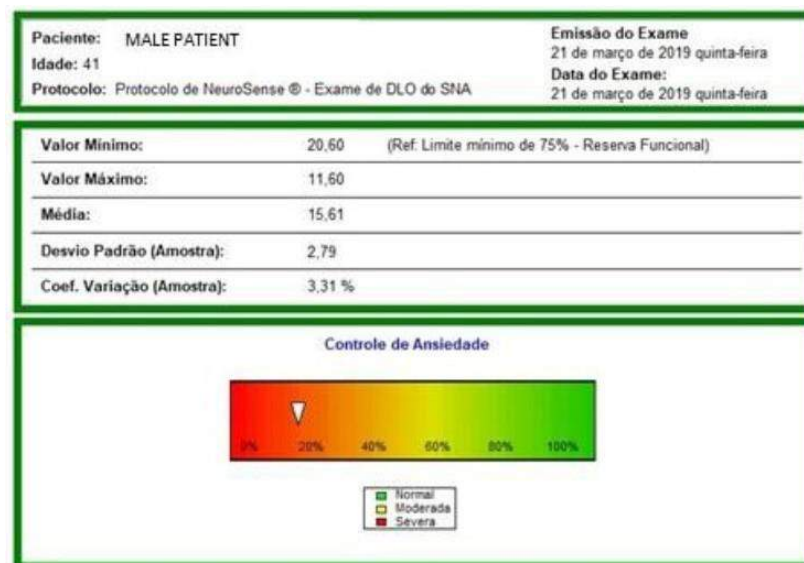


Figure 2: This figure in portuguese language represents a summary of the outcome of the adrenal anxiety control analysis using the liver glycogen functional reserve. If there is an indication of low functional reserve or its use below 75%, it may indicate adrenal stress, which impairs the performance of hormones such as aldosterone, cortisol, adrenaline and dehydroepiandrosterone. This makes it difficult to control adrenal anxiety through good breathing and good bioavailability of oxygen.

Thus, the reserve of this stored energy to enable the fight and flight process [83] or, at least, to control the individual's anxiety [84], can be measured through the synchronization between the reduction of the sweating variability, associated with the reduction of the electrodermal resistance and, consequently, the reduction of the sympathetic activity, being instantaneously calculated by an algorithm configured by the time domain by Fourier Transform [32].

$$\hat{f}(\omega) \equiv F(\omega) \equiv F\{f(t)\} \stackrel{\text{def}}{=} \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{-i\omega t} dt$$

2ª) Physiological Response

The physiological response (Figure 3) is measured by the variation of the peripheral temperature [70], which allows the identification of an ideal thermoregulation, demonstrating if there is a functionality of the elasticity of blood vessels [85], enabling an expected variation of vasoconstriction and vasodilation [85], legitimizing the sympathetic (fight and flight) and parasympathetic (relaxation) functions [86].

The signal originates from the peripheral temperature sensor, which scales the unit of measurement in degrees Celsius. The values originated from this temperature generate 2 more important results: Variability and Thermoregulation. Both have a scale ranging from 0 to 100%. The location of this sensor is on the ring finger [69]. The reference values, that is, expected for a person in equilibrium, are between 31.5° C to 32.5° C, with the expected still ideal temperature of 32° C [70]. Remembering that the value of the peripheral temperature is different from the body that is around 37°C. In physiological standards, the lower the peripheral temperature, *i.e.*, lower than 32°C, the more "accelerated" the nervous and endocrine system may be, and the higher the temperature, above 32°C, the slower will stay the both organic systems [46].

Thermoregulation (vasoconstriction and vasodilation) is the percentage representing the period during which vasoconstriction and peripheral vasodilation occurred during DLO analysis. The ideal is to have a prevalence of vasodilation during rest (lying down); on rising, a prevalence of vasoconstriction; and

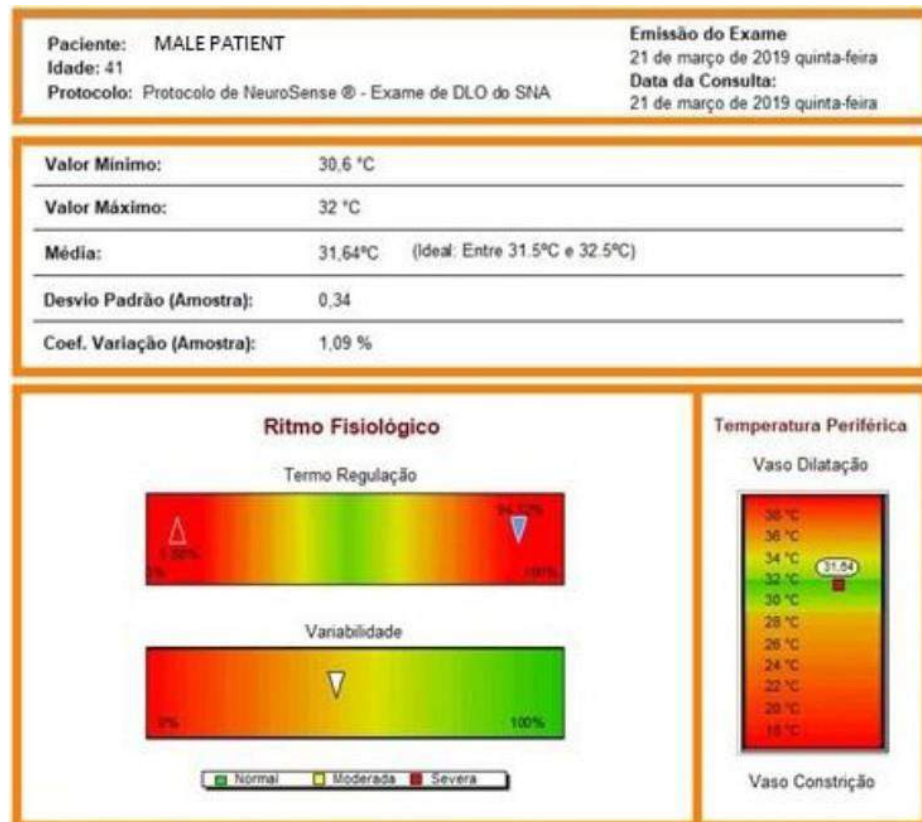


Figure 3: This figure in portuguese language represents the physiological response that corresponds to the variability of the autonomic nervous system by thermoregulation and also identifies the sympathetic nervous system tone.

in the recovery period, a balance between the two. Thus, it is expected, in the end, a result of 50% vasoconstriction and 50% vasodilation [70].

Variability is the ability of the sympathetic vascular tone to vary during position maneuver, which has a conventional variation on a scale of 0 to 100%, and the higher this percentage, the better the vascular tone response [66].

In this sense, it is understood that the physiological response is the combination of values of the 3 Graphs described above (temperature, thermoregulation and variability), where this set of information allows a better reading of peripheral vasoconstriction and vasodilation, classified according to intensity (Light - Moderate - High), signaling to the applied neuroscience professional the need to investigate probable disorders related to the intensity found [69].

The "mild" result does not appear to represent any dysfunction. In the case of a result indicating moderate to high peripheral vasoconstriction, clinical practice recommends investigating the presence of migraine [87], Raynaud's disease [88], hypertension [89], acrocyanosis [90], sexual impotence [91], circulatory problems in general (ischemia, thrombosis or peripheral necrosis) [92], food intolerance [93], immune response [94], dysbiosis [95], possible sleep disturbance, hormonal disorders, especially hyperthyroidism, diabetes, or simply relaxation difficulties [46].

In the case of disorders associated with moderate- high vasodilation, it is suggested to investigate hypotension, obesity, menopause, circulatory problems (edema or varicose ulcer), physical inactivity, hormonal disorders, digestive disorders or even depression [96].

To enable safe thermoregulation, the Nelson Alves Pereira Júnior Functional Neurometry method uses a specific sensor called a thermistor [97], which must be located in the patient's proximal annular phalanx. A thermistor is a sensor that measures in decimals and in units of measurement in degrees [98]. With this thermistor, you can create several possibilities, including a digital thermometer, a presence sensor or a breathing sensor.

3ª) Baroreflex Index

Baroreflex behavior (Figure 4) is the capacity of blood vessels to contract and dilate, which allows the neuroscientist or evaluating neurotechnologist to

observe, through biofeedback equipment, the functional oxygen level that will signal a better displacement of red blood cells [99] in the process of transporting oxygen inside the blood vessels. In Nelson Alves Pereira Júnior's Functional Neurometry biofeedback [46], the balance of these contractions and dilations (baroreflex index) should be above 90% [32, 100].

Some studies have been warning about the importance of this measure of low baroreflex index found in patients with obstructive sleep apnea [101], indicating slight respiratory alterations [102], often asymptomatic or imperceptible. but they gradually impair the performance of mitochondria, reducing Krebs cycle and oxidative phosphorylation and, consequently, firing of neurons, especially neural networks related to upper cortical functions [103].

Other studies demonstrate a reduction in the baroreflex index associated with a vitamin C deficiency [104, 105], vitamin E [106], vitamin B9 [107] and sedentary lifestyle [107], which may contribute to the manifestation of possible negative effects in the prevention of atherosclerosis, especially if sympathetic predominance appears as the primary factor of this imbalance.

The baroreflex index in Nelson Alves Pereira Júnior's functional neurometry is also measured by galvanic skin response involving the sweat gland to measure electrodermal resistance. However, in the case of the baroreflex index, the algorithm predominantly calculates sympathetic nervous system frequencies of **0.01 Hz - 0.04 Hz**, which are related to the individual's perception of external stimuli and functional oxygen [46].

In this sense, there are reports demonstrating respiratory training that stimulates heart rate variability, with a strong and fast inspiration and slow and quiet exhalation, greatly improving the baroreflex index result. In one such report is Dr. Alexander Rittine [108], whose cardiac variability instruments and techniques enabled Russian submarine military personnel to stimulate the sympathetic nervous system in the **0.01 Hz to 0.04 Hz** region and to increase functional oxygen, enabling submerge them beyond the standard [32].

4ª) Hemodynamics (Blood Flow)

Hemodynamics (Figure 4) [109] may be directly related to the lack of hydration with excess hematocrit, it may also be due to difficulties in flexing the



Figure 4: This figure in portuguese language represents the measurement of functional oxygen through the ability of blood vessels to contract and dilate, which is the baroreflex index, and the quality of blood flow displacement, which is hemodynamic. Benchmarks: Baroreflex index should be above 90% and ideal hemodynamics should be below 10%.

endothelium walls or the ideal size of the RBC, especially, because, in some capillaries, only half of a red blood cell can transpose into perfusion flow from one capillary to another, especially because when the blood flow is laminar, it allows the synthesis of nitric oxide and, when it is not laminar, the Nitric oxide synthesis decreases, which may to cause to endothelial dysfunction, increasing impermeability and, consequently, the risk of cardiovascular disease [110].

The origin of the hemodynamic signal, as well as the baroreflex index in Nelson Alves Pereira Júnior's Functional Neurometry happens through a heart rate variability sensor [46, 111], where pulse, velocity and frequency are captured. The optical signal variability is measured by a conventional scale in a 0 to 100% score standard [32, 69].

In functional neurometry, ideal hemodynamics must be below 10% and mean blood flow represents current blood activity (hemodynamics) and correlates with: cardiac changes, blood viscosity, laminar or swirling, peripheral vascular resistance, nutrient transport and oxygen, cardiac output and inflammatory response [32].

The hemodynamics of blood flow with percentages between 10% and 20% in functional neurometry can indicate: mild insufficiency in the transport of nutrients and oxygen or even mild viscosity blood. With percentages above 20%, it is possible to find moderate insufficiency in the transport of nutrients and oxygen and vascular resistance and also an inflammatory response. A low hemodynamics [112] can be explained by the Law formulated by the French physician and physicist Jean Louis Marie Poiseuille that relates the flow Q of a cylindrical tube carrying a viscous liquid with radius R , length l , pressure P and viscosity coefficient n [113]:

$$Q = \frac{\pi \Delta P \cdot R^2}{8 \cdot n \cdot l}$$

Vascular resistance seems to be related to the accumulation of inorganic calcium in soft tissues, such as: in blood vessels, kidneys, liver, heart, carotid, aorta and coronary arteries, and this can form the process of atherosclerosis [114].

In this sense, vascular elasticity seems to depend on vitamin K2, which makes it possible to transport this

calcium to bones, teeth and the central nervous system. The two most important proteins in vitamin K are osteocalcin and the Matrix Gla Protein.

Vitamin K2 was discovered by a dentist named Weston Price [115], studying caries in isolated places, where people made their own food. He found that no one had caries in those places. And yet he realized that these people also did not have Alzheimer's, nor Cancer and without high blood pressure.

Weston Price then decided to take that food to be analyzed in a laboratory in Cleveland, Ohio, USA, where he found that this food in these places had 10 times more fat-soluble vitamins, 4 times more water-soluble vitamins and 4 times more minerals than the food from the USA. Then, he noted that there was a factor in this process, which he called factor X, which is now called vitamin K2 [115, 116].

The best way to supplement vitamin K2 seems to be via Menaquinone 7 (Mk7) [117], because it has a long half-life (up to 3 days) and crosses the liver more easily. To obtain better results with the return of vascular elasticity, K2 must be supplemented by nutritionists or physicians with other nutrients, such as magnesium and vitamin D3, according to the needs of the patient's body after nutritional assessment [118].

There are findings in the literature [119-121] also showing that omega 3 can help in heart health and improve blood circulation (hemodynamics) and have also improved cognitive processes, such as the functioning of memory and correct signaling between neurons.

However, it seems relevant to remember that having knowledge about nutritional, metabolic, cardiovascular or toxic assessment as a neuroscientist adds value to the quality of your work in helping patients, but does not enable you to prescribe supplements, if you are not graduated in nutrition or in medicine [122].

The methods and instruments are free to use. But the purpose is of each profession [123]. Professions are created by law and the conditions, prerogatives, attributions and purpose of each profession are established by legal diploma. In Brazil, Article 47 of Decree-Law 3,688, of October 3, 1941, in Chapter VI, prevents the unlawful exercise of a profession, classifying this attitude as a contravention of the law [122, 124, 125].

For example, if the neuroscientist is a psychologist and he or she has the hypothesis that his or her patient has a nutritional deficit, he or she is not permitted to prescribe a diet nor food supplementation, because this purpose is in the profession of nutritionist [126]. Likewise, if the neuroscientist is a nutritionist and realizes that the patient's way of thinking interferes with his level of resilience and this has affected the patient, leaving him with more stress, consuming unnecessary energy from the functional nutritional reserve, this nutritionist cannot do psychotherapy on this patient, because this is the purpose of the psychologist's profession [127]. But both can work in partnership, as a multidisciplinary team, without invading the prerogatives of another profession [122, 125].

5ª) Encephalic Neurometry

The main function of encephalic neurometry in the Nelson Alves Pereira Júnior method of functional neurometry is to investigate, in the patient, the ability of brainwave predominance to vary in the three positions: dorsal decubitus, stand up and orthostatic [32].

For this, the standard points of the international electroencephalography system 10-20 are evaluated: Fp1, Fp2, F7, F3, Fz, F4, F8, T3, C3, Cz, C4, T4, T5, P3, Pz, P4, T6, O1, Oz, O2, in order to find the highest brainwave amplitudes: Delta (0.5 - 4 Hz), Theta (4 - 8 Hz), Alpha (8 - 12 Hz), Beta-Low (12 - 15 Hz), Beta (15 - 23 Hz), Beta High (23 - 38 Hz) and Gamma (38 - 42 Hz) [66].

As the neurometry has 3 channels of 256 Hz, which corresponds to 256 information in 1 second, so, in the first minute, the equipment receives 15,360 information of brain wave amplitudes of the individual evaluated in dorsal decubitus position; the information from 15,361 to 30,721 refers to the individual in the standing up position at the time of standing; and the information from 30,722 to 46,080 refers to the moment when the individual became orthostatic.

Then, it is organized into a 20-channel mathematical matrix with 46,080 points so that, lastly, the differences in amplitudes are represented in colors, with the cold colors (blue and brown) expressing the largest amplitudes of slow waves, the color yellow, expressing the largest amplitude of medium waves (alpha wave) and red color, representing the largest amplitude of fast waves (beta and gamma waves). This medical signal and image capture system is approved by the Brazilian Ministry of Health, under registration ANVISA 81403519001 [128].

As for topographic uptake and disposition, the neurometry system captures and collects raw resonance frequency data for telemetry inversion (a variable signal within the transcranial electric field diameter, which is then filtered from artifacts and converted into data significant digital devices) through an international scientific computing system MathLibrary MtxVec, LAPACK and Math Kernel BLAS with code vectoring and instructions Streaming SIMD Extensions SSE2, SSE3 and SSE4 [129-133], used by the Massachusetts Institute of Technology (MIT), NASA, National Research Council of Canada, Pfizer and the Universities of Ohio, California, Cambridge, Salford, Washington, Oxford, USP and Johns Hopkins School of Medicine, etc. Raw data is divided into its constituent spectral peaks based on the quantitate of waves present in the signals. Spectral peaks are analyzed and statistically adapted according to the Z- score standardization and the resulting data are represented as a color topographic map. This technology allows the global measurement of signals in their amplitude and frequency, making it easier for the software to locate any statistically significant deviations [46].

Analysis of the neurometry signal for quantification for depth values occurs by the ARIMA model. ARIMA is the name given to a model widely used in time series modeling and forecasting in statistics and econometrics [134]. The term derives from the English-language classification autoregressive integrated moving average, which means integrated autoregressive moving average model [135]. The model was systematized in 1976 by statisticians George Box and Gwilym Jenkins, which makes the model also known as Box-Jenkins Model [136].

The ARIMA model is a generalization of the autoregressive moving average (ARMA) model [135]. The ARIMA representation (p, d, q) refers, respectively, to the autoregression, integration and moving average orders of each point located in the analyzed range [137]:

p is the number of individual autoregressive signals
d is the number of differences, and
q is the number of moving average terms

The ARIMA model (p, d, q) is presented by the equation [138]:

$$(1 - \sum_{i=1}^p \phi_i L^i)(1 - L^d)X_t = (1 + \sum_{i=1}^q \theta_i L^i) \epsilon_t$$

where d is a positive integer that determines the number of differences (in the case d = 0, this equation is equivalent to the ARMA model (p, q), and L are numbers of associated periods.

$$LX_t = X_{t-1}$$

The associated periods allow a concise notation to write difference equations [46].

For example, be the equation of the neurometry signal of order "p", then:

$$y_t = a_0 + a_1 \cdot y_{t-1} + a_2 \cdot y_{t-2} + \dots + a_p \cdot y_{t-p} + \epsilon_t$$

Putting all the terms y_{t-i} to the left side of the equation and the rest to the right side, we have:

$$y_t - a_1 \cdot y_{t-1} - a_2 \cdot y_{t-2} - \dots - a_p \cdot y_{t-p} = a_0 + \epsilon_t$$

Putting y in evidence, we have:

$$\left[1 - a_1 \frac{y_{t-1}}{y_t} - a_2 \frac{y_{t-2}}{y_t} - \dots - a_p \frac{y_{t-p}}{y_t}\right] y_t = a_0 + \epsilon_t$$

Using the number of associated periods, we can write the equation, such as:

$$[1 - a_1 L - a_2 L^2 - \dots - a_p L^p] y_t = a_0 + \epsilon_t$$

Or even more compactly:

$$A(L)y_t = a_0 + B(L)\epsilon_t$$

Where, $A(L)$ represents a polynomial. The notation $A(1)$ is used to denote the sum of the coefficients:

$$A(1) = 1 - a_1 - a_2 - \dots - a_p$$

In this way, the values per connection point of each sensor can generate a chain of associated period numbers, giving approximate depth values, which can be represented in color, expressed in 3D image depth projections in a Neurometry software. Approved by the Brazilian Health Surveillance Agency, under registration number ANVISA 81403519001 [128].

TRAINING PROTOCOL CATEGORIES

1) Sound Anxiety Control

During the sound anxiety control training, the Neuroscientist Trainer or Neurotechnologist instructs the patient to close their eyes and keep their breathing

very calm [32]. If the patient to get control anxiety, the equipment will play an instrumental song, and if that song plays for 1 minute, the patient will succeed in the first stage of training [70]. However, he must be able to achieve anxiety control in three stages, each one minute long with a specific instrumental song. The music will be the feedback that the patient really got the objective [66].

Measures related to the sound anxiety control are performed through galvanic skin resistance responses with statistics only of the frequency range of 0.04 Hz - 0.20 Hz of the sympathetic nervous system, activated by internal stimuli, such as: thoughts, feelings and emotions [69].

According to Fourier, the entire signal can be inscribed as a superposition of complex sinusoidal and can be expressed in the time domain = $x(t)$ or the frequency domain = $x[k]$ [66].

$$X(t) = \sum_{K=-\infty}^{\infty} X[k]e^{j\omega_0 t}$$

Signal analysis in the Nelson Alves Pereira Júnior Functional Neurometry method is in the discrete frequency domain [46].

$$X[k] = \frac{1}{T} \int_{\langle T \rangle} X(t)e^{-j\omega_0 t} dt$$

Recalling that a complex sinusoid can be expressed in a Cartesian or polar representation:

$$e^{-j\theta} = \cos \theta \pm j \sin \theta$$

$$e^{-j\theta} \rightarrow a + jb = re^{j\theta}$$

For this, the predominance of the sympathetic nervous system frequency is calculated separately by the ARIMA autoregressive equation [138] already mentioned in the Encephalic Neurometry category of this same scientific article.

II) Visual Anxiety Control

In the training of visual anxiety control, the patient is instructed to keep his eyes open. The instructions and purpose are the same as sound anxiety control protocol. However, in this category, the frequencies captured are 0.01 Hz - 0.04 Hz [66], which are also part

of the sympathetic autonomic nervous system, but are activated by external stimuli (sounds, noises, smells, visual stimuli, body perceptions, pain, position, work, external pressure, apprehensive look, analyzer or critical look, among others) [66, 70]. The instructions given by the training neuroscientist allow the patient to remain in a relaxed state, which desensitizes the autonomic blocks linked to the hypervigilant look, which arose from some traumatic events in the past of that patient. All workouts are associated with continuous breathing techniques that lead the individual to a state of physiological and mental balance.

III) Emotional Variability

Emotional variability is one of the most audacious categories of training, where one learns to stimulate the sensation of struggle and flight and, soon after, to vary from the sensation of struggle and flight to the state of relaxation, watching in real time in red graphs expressing the activation of the neuroemotional reaction, named by Nelson Alves Pereira Júnior, when the subject in training is affected by external stimuli, triggering the frequency range from 0.01 to 0.04 Hz [139], being this range also responsible for the expression of functional oxygen activity.

In this same category of emotional variability, there is also the ability to activate internal stimuli of the person in training by activating frequencies ranging from 0.04 to 0.20 [140]. The activation of this frequency range, which is triggered by internal stimuli, was named by Nelson Alves Pereira Júnior as neuroemotional response [69]. While the two frequency ranges of the sympathetic autonomic nervous system are induced by a fast breathing and exhaling breathing method, the recovery process induced by slow breathing triggers the parasympathetic nervous system frequency range (0.20 - 0.50 Hz) [141].

The graphical identification on the computer screen, which expresses the difference between sympathetic or parasympathetic activation [46], appears in circular form, turning red when the highest percentage is sympathetic and green when the highest percentage is parasympathetic, acting as feedback [66].

IV) Amplitude and Respiratory Frequency

The training of amplitude and respiratory rate takes place in a guided way, where the computer program presents an architecture with two external red lines and two internal green lines [69]. The patient inhales, producing a graphic effect expressed as a straight line

reaching the green line, but avoiding touching the red line and exhaling, making this graphic effect of the straight line descend, also passing through the green line at the bottom, but should avoid touching the red line [70]. This training, in addition to stimulating sympathetic and parasympathetic receptors, also mobilizes blood flow to the prefrontal region, also training the patient's ability to concentrate, because during the training, the patient is obliged to be careful not to touch the line red in color.

V) Progressive Muscle Relaxation

Progressive muscle relaxation training began with behavioral psychiatrist Joseph Wolpe around 1954 [142]. His idea is based on the psychosomatic concept that anxiety impedes proprioceptive body awareness [143]. Thus, the individual can cause tensions in his own body without realizing it [143].

In this sense, Nelson Alves Pereira Júnior decided to include in his Functional Neurometry method the effect of progressive muscle relaxation [144], training in the patient muscle contraction and recovery in five body regions: frontal, upper limbs (right and left) and lower limbs (right and left) [46]. This training allows the patient to recognize places that are excessively tense, then allowing muscle relaxation, ensuring a better proprioception of the body scheme [32].

VI) Functional Physiological Response

The functional physiological response is measured by thermoregulation [32], which calculates separately on 2 (two) scales: one for sympathetic control (by vasoconstriction), especially temperatures below 31.5° and the other monitoring the parasympathetic temperatures (by vasodilation), especially above 32.5° [145].

Specifically in the analysis of the autonomic variation capacity by thermoregulation, when the behaviors are similar with close percentages, around 45 to 50%, it means that the individual is in adequate conditions to relax [32], who has a good adequate unconscious proprioception [46]. But if the behaviors are different, it means that something is wrong with the predominance of one or the other, or that there is a block of autonomic variation [146], which will leave the individual with difficulties in resilience. Situations that irritate or frighten you, and you may feel helpless [147], anguish [148], with difficulties in receiving criticism [149] and difficulties in relaxing [147], and may react with emotional outburst [149] or withdrawal [150], moving away from people, social activities, that is, with difficulties in the adaptation

process [150].

VII) Respiratory Functional Capacity

The client will learn to work with his breathing capacity [151], reaching as close as 100%, following a sound simulation of respiratory rate at 0.5 Hz (5 cycles per minute) and then at 0.8 Hz (8 cycles per minute). Between one frequency and another, the tidal volume is trained to make breathing more conscious [32]. In addition, this continuous respiratory training allows the patient to increase the volume of oxygen at the cerebral mitochondrial level, improving the firing of neurons, especially the neurons of the anterior cingulate cortex, related to planning, organization and braking of impulsive thoughts and attitudes.

VIII) Heart Rate Variability

In the heart rate variability category, the pulse, speed, frequency and variability of the optical signal (pulse oximeter) are captured [32], agreed on a scale in a logistic combination ranging from 0 100% [46] and all are calculated by the frequency domain Fourier Transform [152].

$$f(t) \equiv F^{-1} \{ f(\omega) \} \stackrel{\text{def}}{=} \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} F(\omega) e^{i\omega t} d\omega$$

This state of cardiac variability is stimulated by rapid and strong inhalation (for approximately 1 second), followed by a quiet and slow exhalation (approximately 6 seconds) repeatedly stopping for 3 minutes in each training step with 1 minute to rest, organized in 3 repetition stages, totaling 9 minutes of heart rate variability training [153].

The origin of the greatest advances in heart rate variability studies lies in 30 years of dedication by Dr. Alexander Rytine [108], who received his Master of Science degree in Automation and Computer Engineering from the Leningrad Naval Academy in the former Soviet Union (now St. Petersburg), and his academic title of Ph.D. in Biological Sciences from the Glushkov Institute of Cybernetics in Kiev [154].

Between 1981 and 1982, the first experimental version of the first heart rate variability (HRV) device was developed based on the Time Domain and Auto-Regression approach, but at this time it was clear that the time domain was fundamentally flawed, as it did not reflect the internal structure of the heart rhythm [108].

From these early results, a massive data collection effort was initiated, and, in the summer of 1986, 12,000 orthostatic test data samples and 700 stress test data samples were collected and analyzed. But, Dr. Rifting was not convinced yet [32]. Thus, to provide a meaningful and systematic interpretation for all of his data collection, he began to look for a fundamentally new methodology that was more comprehensive and accurate in measuring an individual's current physical / physiological state, as well as health resources and genetic ability [111].

Therefore, in the first half of 1987, Dr. Rifting formulated a new theory for the quantitative assessment of an individual's functional status using the HRV methodology [108]. This theory was based on his own original ideas in the field of biomedical cybernetics and normal physiology. However, the practical applications of the theory - specifically, its algorithms for the quantitative assessment of an individual's functional state - were developed based on Marvin Minsky's Frame Theory [154].

It was not until 1988 that a product based entirely on Dr. Rifting's theory called Health-Express was developed. However, it was in 1992 that Dr. Rifting presented the first product to provide an automatic quantitative assessment of the Autonomic Nervous System (ANS) [154].

And finally, between 1997 and 2000, a validation study of Dr. Rifting's Nerve-Express method was conducted by J. Thomas Bigger, Jr., MD, Head of Research Holter Laboratory, at the University of Washington College of Physicians and Surgeons. Columbia [108], consolidating in the scientific community the first method of biofeedback evaluation of SNA performance [108].

IX) Heart Coherence

It is the respiratory training that induces the state of cardiac coherence [69], which means a psychophysiological state of perfect synchronization between cardiac variability, respiratory rate and anxiety control [46], mobilizing other cyclic functions of the organism to a state of equilibrium, such as the endocrine and neuroimmunological systems [32]. Some factors can hinder the condition of cardiac coherence, such as: sedentary lifestyle, endothelial dysfunction (vascular resistance), low micronutrients (vitamins B2, B5, B6, biotin, ascorbic acid, lipoic acid, copper, zinc, iron, B9 and / or B12), low omega-3, low omega-6, low coenzyme Q10, low magnesium, low

Dehydroepiandrosterone, low vitamin D3 and low vitamin K2 [155, 156], subclinical inflammations, oxidative stress, allergies, food intolerances, adrenal stress or low heart rate variability, indicating that the patient has, most of the heart rate, outside the range of variance.

DISCUSSION

This study corroborates several findings that attribute biofeedback [157-160] as an important alternative method to conventional drug treatment.

The technology of monitoring physiological functions seems to go back to the ideas of the 1970s [161]. However, the method described here has added concepts, which make biofeedback one of the greatest allies in the aid of medicine, because it allows identifying the control of anxiety by the adrenal function, functional oxygen level, hemodynamics, food intolerance and ability to vary autonomy.

This innovation has enabled the development of a low-cost system that has a great impact on users' health, bringing non-pharmacological alternatives, which can benefit, above all, people with drug restrictions, such as children, the elderly, pregnant women, nephropathic patients and liver disease.

It seems relevant to add that biofeedback and neurofeedback training are not a substitute for psychotherapy. In fact, they are treatment methods, which complement each other. While psychotherapy works on the reframing of thoughts and beliefs to control anxiety, respiratory training with biofeedback's equipment allows the control of anxiety by systematic desensitization. However, these actions depend a lot on the care performed by functional nutritionists, neurologists, physicians and physicians of healthy longevity, who can monitor the biochemical markers in blood and urine tests and offer adequate treatments made possible by nutritional, cardiovascular, metabolic and toxic assessments.

Thus, psychiatrists and neurologists, with this multidisciplinary support, can work with neuromodulation of neurotransmitters without worrying about the clinical issue, allowing patients to be speedy, balance in medication doses and safety in results.

KEY POINTS

- This study presents a method capable of combining biofeedback tools already

demonstrated in the literature, such as: galvanic skin response, cardiac coherence and variability, thermoregulators and respiratory interact with each other.

- In this study, it is still possible to observe how the evaluation protocol and the training protocol can assist the physicians' work with the combination of the equipment in only one method, alerting if the patient has low functional oxygen, low functional amino acid reserve, proteins, vitamins, carbohydrates, lipids and minerals, with inadequate hemodynamics for nutrient transport or food intolerance.
- It also shows that mathematics can help us see phenomena and help us control the best state of physiological equilibrium with formulas such as the Fourier Transform.

DISCLOSURE

The authors report no conflicts of interest.

REFERENCES

- [1] Bahrack HP, PM Fitts, and R. Schneider, Reproduction of simple movements as a function of factors influencing proprioceptive feedback. *J Exp Psychol*, 1955; 49(6): p. 445-54.
<https://doi.org/10.1037/h0042494>
- [2] Chase RA, Effect of delayed auditory feedback on the repetition of speech sounds. *J Speech Hear Disord*, 1958; 23(5): p. 583-90.
<https://doi.org/10.1044/jshd.2305.583>
- [3] Chase RA and G. Guilfoyle, Effect of simultaneous delayed and undelayed auditory feedback on speech. *J Speech Hear Res*, 1962; 5: p. 144-51.
<https://doi.org/10.1044/jshr.0502.144>
- [4] Hedlund JM and CT. White, Nystagmus induced by visual feedback. *J Opt Soc Am*, 1959; 49(7): p. 729-30.
<https://doi.org/10.1364/JOSA.49.000729>
- [5] Kamiya J. Conscious control of brain waves. 1968.
<https://doi.org/10.1037/e400092009-006>
- [6] Weiss B. The role of proprioceptive feedback in positioning responses. *J Exp Psychol*, 1954; 47(3): p. 215-24.
<https://doi.org/10.1037/h0062684>
- [7] Peper E. and F. Shaffer, Biofeedback history: An alternative view. *Biofeedback*, 2010; 38(4): p. 142-147.
<https://doi.org/10.5298/1081-5937-38.4.03>
- [8] Bodenhamer-Davis, E., Relationship of alpha-theta amplitude crossover during neurofeedback to emergence of spontaneous imagery and biographical memory. 2011; Citeseer.
- [9] Moss D. Biofeedback, mind-body medicine, and the higher limits of human nature. *Humanistic and transpersonal psychology: A historical and biographical sourcebook*, 1999: p. 145-161.
- [10] Glueck, B.C. and C.F. Stroebel, Biofeedback and meditation in the treatment of psychiatric illnesses. *Comprehensive Psychiatry*, 1975.
[https://doi.org/10.1016/S0010-440X\(75\)80001-0](https://doi.org/10.1016/S0010-440X(75)80001-0)
- [11] MacLeod JH. Biofeedback in the management of partial anal incontinence: a preliminary report. *Diseases of the Colon & Rectum*, 1979. 22(3): p. 169-171.
<https://doi.org/10.1007/BF02586810>
- [12] Cassel RN, BR. Costello, and B.M. Pullar, Comparing two worlds of feelings using biofeedback (DISPROF-logicalworld, & EMOTE-picture World). *Education*, 1993; 113(4): p. 520-532.
- [13] Ribas VR, RdMG Ribas, and HAdL Martins, The learning curve in neurofeedback of peter van deusen: A review article. *Dementia & neuropsychologia*, 2016; 10(2): p. 98-103.
<https://doi.org/10.1590/S1980-5764-2016DN1002005>
- [14] Sterman M. Effects of brain surgery and EEG operant conditioning on seizure latency following monomethylhydrazine intoxication in the cat. *Experimental Neurology*, 1976; 50(3): p. 757-765.
[https://doi.org/10.1016/0014-4886\(76\)90041-8](https://doi.org/10.1016/0014-4886(76)90041-8)
- [15] Sterman M, Fairchild M and H. Van Twyver, Subconvulsive effects of monomethylhydrazine on runway performance in the cat. 1969, California Univ Los Angeles Brain Research Inst.
<https://doi.org/10.1037/e427142004-001>
- [16] Lisina M. The role of orientation in the conversion of involuntary into voluntary reactions. *Orientirovochny Refleks i Orientirovochno Issledovatel'Skaia Deiatel 'nost'*. Moscow Acad. Pedag. Sci, 1958.
- [17] Lapias J, RB Sweet, and LW. Lewis, Role of striated muscle in urination. *The Journal of urology*, 1957; 77(2): p. 247-250.
[https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)66549-2](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)66549-2)
- [18] Kimmel H. Instrumental conditioning of autonomically mediated behavior. *Psychological Bulletin*, 1967; 67(5): p. 337.
<https://doi.org/10.1037/h0024494>
- [19] Skinner B. John Broadus Watson, behaviorist. *Science*, 1959.
<https://doi.org/10.1126/science.129.3343.197>
- [20] Jarius S and B Wildemann, Pavlov's Reflex before Pavlov: Early Accounts from the English, French and German Classic Literature. *Eur Neurol*, 2017; 77(5-6): p. 322-326.
<https://doi.org/10.1159/000475811>
- [21] Ribas V. *et al.*, The Functioning of the Brain Trained by Neurofeedback with Behavioral Techniques from a Learning Curve Perspective. *J Psychol Psychother Res*, 2016; 3(2): p. 12-9.
- [22] Jacobson E. Progressive relaxation. 1938.
<https://doi.org/10.1097/0000441-193811000-00037>
- [23] Wolpe J. The systematic desensitization treatment of neuroses. *Journal of Nervous and Mental disease*, 1961.
<https://doi.org/10.1097/00005053-196103000-00001>
- [24] Lichstein KL. *Clinical relaxation strategies*. 1988: John Wiley & Sons.
- [25] Wolpe J. Psychotherapy by reciprocal inhibition. *Conditional reflex: a Pavlovian journal of research & therapy*, 1968; 3(4): p. 234-240.
- [26] Linton SJ and G. Götestam, Relations between pain, anxiety, mood and muscle tension in chronic pain patients. *Psychotherapy and psychosomatics*, 1985; 43(2): p. 90-95.
<https://doi.org/10.1159/000287864>
- [27] Schwartz MS and F Andrasik, *Biofeedback: A practitioner's guide*. 2017: Guilford Publications.
- [28] Penque S. *et al.*, Women and coronary disease: relationship between descriptors of sign and symptoms and diagnostic and treatment course. *American Journal of Critical Care*, 1998; 7(3): p. 175.
<https://doi.org/10.4037/ajcc1998.7.3.175>
- [29] Karlsson AK, Overview: Autonomic dysfunction in spinal cord injury: clinical presentation of symptoms and signs. *Progress in brain research*, 2006; 152: p. 1-8.
[https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(05\)52034-X](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(05)52034-X)

- [30] Goswami U. Inductive and deductive reasoning. 2002.
- [31] Maciel R. Bruxismo. 2009: Artes Médicas.
- [32] Alves Pereira NJ. Tratamento e prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, baseado na variabilidade do sistema nervoso na neurometria. *Revista Brasileira de Neurometria*, 2017; 1(1): p. 27-46.
- [33] Critchley HD. *et al.*, Neural activity relating to generation and representation of galvanic skin conductance responses: a functional magnetic resonance imaging study. *Journal of Neuroscience*, 2000; 20(8): p. 3033-3040.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-08-03033.2000>
- [34] Tiller WA, R McCraty and M Atkinson, Cardiac coherence: A new, noninvasive measure of autonomic nervous system order. *Alternative therapies in Health and Medicine*, 1996; 2(1): p. 52-65.
- [35] Malik M and AJ Camm, Heart rate variability. *Clinical cardiology*, 1990; 13(8): p. 570-576.
<https://doi.org/10.1002/clc.4960130811>
- [36] Romanovsky AA. Thermoregulation: some concepts have changed. *Functional architecture of the thermoregulatory system*. *American journal of Physiology-Regulatory, integrative and comparative Physiology*, 2007; 292(1): p. R37-R46.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00668.2006>
- [37] Davies C. Limitations to the prediction of maximum oxygen intake from cardiac frequency measurements. *Journal of Applied Physiology*, 1968; 24(5): p. 700-706.
<https://doi.org/10.1152/jappl.1968.24.5.700>
- [38] Vanderlei L. *et al.*, Comparison of the Polar S810i monitor and the ECG for the analysis of heart rate variability in the time and frequency domains. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2008; 41(10): p. 854-859.
<https://doi.org/10.1590/S0100-879X2008005000039>
- [39] Large EW. and JS. Snyder, Pulse and meter as neural resonance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2009. 1169(1): p. 46-57.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04550.x>
- [40] Dubinsky JM, G. Roehrig, and S. Varma, Infusing neuroscience into teacher professional development. *Educational Researcher*, 2013; 42(6): p. 317-329.
<https://doi.org/10.3102/0013189X13499403>
- [41] Eussen SR. *et al.*, Functional foods and dietary supplements: products at the interface between pharma and nutrition. *European journal of pharmacology*, 2011; 668: p. S2-S9.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.07.008>
- [42] Kini VR. *et al.*, Patient training in respiratory-gated radiotherapy. *Medical Dosimetry*, 2003; 28(1): p. 7-11.
[https://doi.org/10.1016/S0958-3947\(02\)00136-X](https://doi.org/10.1016/S0958-3947(02)00136-X)
- [43] Nicolo A. *et al.*, Respiratory Frequency as a Marker of Physical Effort During High-Intensity Interval Training in Soccer Players. *Int J Sports Physiol Perform*, 2019: p. 1-24.
<https://doi.org/10.1123/ijspp.2019-0028>
- [44] Bostanci O. *et al.*, Inspiratory muscle training improves pulmonary functions and respiratory muscle strength in healthy male smokers. *Respir Physiol Neurobiol*, 2019; 264: p. 28-32.
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2019.04.001>
- [45] Belman MJ and B Tiep, Respiratory training using feedback. 1991, Google Patents.
- [46] Alves Pereira NJ, LC Suliano, and Lopes S. Resposta Neurométrica Computadorizada dos estímulos da Acupuntura auricular. 2016, Curitiba, PR: Faculdade IBRATE.
- [47] Ribas VR. *et al.*, Pattern of anxiety, insecurity, fear, panic and/or phobia observed by quantitative electroencephalography (QEEG). *Dementia & neuropsychologia*, 2018; 12(3): p. 264-271.
<https://doi.org/10.1590/1980-57642018dn12-030007>
- [48] Ribas V. *et al.*, Treatment of depression with quantitative electroencephalography (QEEG) of the TQ-7 neuro-feedback system increases the level of attention of patients. *J Neurol Disord*, 2017; 5(340): p. 2.
- [49] Seebeck TJ. Ueber den magnetismus der galvenische kette, Abh. K. Akad. Wiss., Berlin, 1821; 289: p. 1821.
- [50] ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas 60601, ABNT NBR IEC 60601-1:2010, ABNT, Editor. 2010.
- [51] Arce RM. Uma revisão da transição do Freud neurologista ao Freud psicanalista. *CALIBÁN - Revista Latinoamericana de Psicanálise - Tradição/Invenção*, 2012; 10(1): p. 39.
- [52] Freud A. The ego and the mechanisms of defence. 1992: Karnac Books.
- [53] FREUD S. O ego eo id (1923). Edição standard brasileira das obras psicológicas completas de Sigmund Freud, 1996.
- [54] Justo JM. Gravidez e mecanismos de defesa: um estudo introdutório. *Análise Psicológica*, 1990; 8: p. 371-376.
- [55] Ryan G and H Sfar-Gandoura, Introduction to positivism, interpretivism and critical theory. *Nurse Res*, 2018; 25(4): p. 41-49.
<https://doi.org/10.7748/nr.2018.e1466>
- [56] Guerra A and GM de Carvalho, Interpretação e método. 2002: Editora Garamond.
- [57] Galy A. *et al.*, Human T, B, natural killer, and dendritic cells arise from a common bone marrow progenitor cell subset. *Immunity*, 1995; 3(4): p. 459-473.
[https://doi.org/10.1016/1074-7613\(95\)90175-2](https://doi.org/10.1016/1074-7613(95)90175-2)
- [58] Geering B. *et al.*, Living and dying for inflammation: neutrophils, eosinophils, basophils. *Trends in immunology*, 2013; 34(8): p. 398-409.
<https://doi.org/10.1016/j.it.2013.04.002>
- [59] Freud A. O ego e os mecanismos de defesa. 1974: Civilização brasileira.
- [60] Guerra AG. *et al.*, O crime, realidade e desafio: abordagem psicodinâmica do homicídio. 1990: AG Guerra.
- [61] Simon E, AE Meuret, and T Ritz, Sympathetic and parasympathetic cardiac responses to phobia-relevant and disgust-specific emotion provocation in blood-injection-injury phobia with and without fainting history. *Psychophysiology*, 2017; 54(10): p. 1512-1527.
<https://doi.org/10.1111/psyp.12900>
- [62] Mello AF. *et al.*, Depression and stress: is there an endophenotype? *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 2007; 29: p. s13-s18.
<https://doi.org/10.1590/S1516-44462007000500004>
- [63] Fritze J. The adrenergic-cholinergic imbalance hypothesis of depression: a review and a perspective. *Reviews in the Neurosciences*, 1993; 4(1): p. 63-94.
<https://doi.org/10.1515/REVNEURO.1993.4.1.63>
- [64] Medel-Matus, JS. *et al.*, Inherent vulnerabilities in monoaminergic pathways predict the emergence of depressive impairments in an animal model of chronic epilepsy. *Epilepsia*, 2017; 58(8): p. e116-e121.
<https://doi.org/10.1111/epi.13822>
- [65] O'Shea KS and MG. McInnis, Neurodevelopmental origins of bipolar disorder: iPSC models. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 2016; 73: p. 63-83.
<https://doi.org/10.1016/j.mcn.2015.11.006>
- [66] Pita MTC. Perfil neurométrico do controle da ansiedade em indivíduos com baixo rendimento escolar. *Revista Brasileira de Neurometria*, 2017; 2(1): p. 13-30.
- [67] Waxenbaum JA and M Varacallo, Anatomy, Autonomic Nervous System, in StatPearls. 2019: Treasure Island (FL).
- [68] Zaccaro A. *et al.*, How Breath-Control Can Change Your Life: A Systematic Review on Psycho-Physiological Correlates of Slow Breathing. *Front Hum Neurosci*, 2018; 12: p. 353.
<https://doi.org/10.3389/fnhum.2018.00353>

- [69] Barcelos DP. Correlação entre o sistema cognitivo e o fisiológico, através da resposta galvânica e a coerência cardíaca na neurometria. *Revista Brasileira de Neurometria*, 2017; 1(1): p. 5-14.
- [70] Piorsky AN and MMF. Muniz, Resposta neurométrica computadorizada da microfisioterapia: relato de caso. *Revista Brasileira de Neurometria*, 2017; 2(1): p. 5-12.
- [71] Cowan MJ. *et al.*, Comparison of autoregression and fast Fourier transform techniques for power spectral analysis of heart period variability of persons with sudden cardiac arrest before and after therapy to increase heart period variability. *Journal of electrocardiology*, 1992; 25: p. 234-239. [https://doi.org/10.1016/0022-0736\(92\)90109-D](https://doi.org/10.1016/0022-0736(92)90109-D)
- [72] Curtis SR and AV Oppenheim. Reconstruction of multidimensional signals from zero crossings. *JOSA A*, 1987. 4(1): p. 221-231. <https://doi.org/10.1364/JOSAA.4.000221>
- [73] Whitham GB. Linear and nonlinear waves. Vol. 42. 2011: John Wiley & Sons.
- [74] Wang Z. Fast algorithms for the discrete W transform and for the discrete Fourier transform. *IEEE Transactions on Acoustics, Speech, and Signal Processing*, 1984; 32(4): p. 803-816. <https://doi.org/10.1109/TASSP.1984.1164399>
- [75] Nagai Y, CI Jones and A Sen, Galvanic Skin Response (GSR)/Electrodermal/Skin Conductance Biofeedback on Epilepsy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Neurol*, 2019; 10: p. 377. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00377>
- [76] Oleson T. Auriculotherapy stimulation for neuro-rehabilitation. *NeuroRehabilitation*, 2002; 17(1): p. 49-62. <https://doi.org/10.3233/NRE-2002-17107>
- [77] Shwachman H, R Dunham, and W Phillips, Electrical conductivity of sweat: a simple diagnostic test in children. *Pediatrics*, 1963; 32(1): p. 85-88.
- [78] Malmivuo P, J Malmivuo and R Plonsey, Bioelectromagnetism: principles and applications of bioelectric and biomagnetic fields. 1995: Oxford University Press, USA. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195058239.001.0001>
- [79] Peek CJ. A primer of biofeedback instrumentation. 1995.
- [80] Roehrig KL and JB Allred, Direct enzymatic procedure for the determination of liver glycogen. *Analytical biochemistry*, 1974. 58(2): p. 414-421. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(74\)90210-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(74)90210-3)
- [81] Shimazu T and A Amakawa. Regulation of glycogen metabolism in liver by the autonomic nervous system II. Neural control of glycogenolytic enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1968; 165(3): p. 335-348. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(68\)90211-0](https://doi.org/10.1016/0304-4165(68)90211-0)
- [82] Hems DA and PD Whitton. Control of hepatic glycogenolysis. *Physiological Reviews*, 1980; 60(1): p. 1-50. <https://doi.org/10.1152/physrev.1980.60.1.1>
- [83] Curtis BM and JH. O'Keefe Jr. Autonomic tone as a cardiovascular risk factor: the dangers of chronic fight or flight. in *Mayo Clinic Proceedings*. 2002; Elsevier. <https://doi.org/10.4065/77.1.45>
- [84] Friedman BH and JF. Thayer, Anxiety and autonomic flexibility: a cardiovascular approach. *Biological psychology*, 1998; 47(3): p. 243-263. [https://doi.org/10.1016/S0304-0511\(97\)00027-6](https://doi.org/10.1016/S0304-0511(97)00027-6)
- [85] Van Bavel E, P Siersma and JA Spaan. Elasticity of passive blood vessels: a new concept. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2003; 285(5): p. H1986-H2000. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00248.2003>
- [86] Levy MN. Brief reviews: sympathetic-parasympathetic interactions in the heart. *Circulation research*, 1971; 29(5): p. 437-445. <https://doi.org/10.1161/01.RES.29.5.437>
- [87] Friar LR and J Beatty. Migraine: management by trained control of vasoconstriction. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 1976; 44(1): p. 46. <https://doi.org/10.1037/0022-006X.44.1.46>
- [88] Olsen N and O Petring. Vibration elicited vasoconstrictor reflex in Raynaud's phenomena. *Occupational and Environmental Medicine*, 1988; 45(6): p. 415-419. <https://doi.org/10.1136/oem.45.6.415>
- [89] Egan B. *et al.*, Mechanism of increased alpha adrenergic vasoconstriction in human essential hypertension. *The Journal of clinical investigation*, 1987; 80(3): p. 812-817. <https://doi.org/10.1172/JCI113138>
- [90] Sivula A. Vascular reactions in acrocyanosis. *Angiology*, 1966; 17(5): p. 269-274. <https://doi.org/10.1177/000331976601700501>
- [91] Gavras H. Method for treating impotence. 1996, Google Patents.
- [92] Marzilli M. *et al.*, Coronary microcirculatory vasoconstriction during ischemia in patients with unstable angina. *Journal of the American College of Cardiology*, 2000; 35(2): p. 327-334. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(99\)00554-9](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(99)00554-9)
- [93] Ortolani C and EA Pastorello. Food allergies and food intolerances. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 2006; 20(3): p. 467-483. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2005.11.010>
- [94] Ali SM and RA Khalil. Genetic, immune and vasoactive factors in the vascular dysfunction associated with hypertension in pregnancy. *Expert opinion on therapeutic targets*, 2015; 19(11): p. 1495-1515. <https://doi.org/10.1517/14728222.2015.1067684>
- [95] Kamo T. *et al.*, Dysbiosis and compositional alterations with aging in the gut microbiota of patients with heart failure. *PloS one*, 2017; 12(3): p. e0174099. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174099>
- [96] Furness JB. The enteric nervous system. 2006. <https://doi.org/10.1002/9780470988756>
- [97] Hanaoka T. Thermistor thermometer. 1986, Google Patents.
- [98] Beakley W. The design of thermistor thermometers with linear calibration. *Journal of Scientific Instruments*, 1951; 28(6): p. 176. <https://doi.org/10.1088/0950-7671/28/6/305>
- [99] Madden KM. *et al.*, Aerobic training restores arterial baroreflex sensitivity in older adults with type 2 diabetes, hypertension, and hypercholesterolemia. *Clinical journal of sport medicine: official journal of the Canadian Academy of Sport Medicine*, 2010; 20(4): p. 312. <https://doi.org/10.1097/JSM.0b013e3181ea8454>
- [100] Lantelme P. *et al.*, Spontaneous baroreflex sensitivity: toward an ideal index of cardiovascular risk in hypertension? *Journal of hypertension*, 2002; 20(5): p. 935-944. <https://doi.org/10.1097/00004872-200205000-00029>
- [101] Carlson JT. *et al.*, Depressed baroreflex sensitivity in patients with obstructive sleep apnea. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1996; 154(5): p. 1490-1496. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.154.5.8912770>
- [102] Bristow J. *et al.*, Cardiovascular and respiratory changes during sleep in normal and hypertensive subjects. *Cardiovascular research*, 1969; 3(4): p. 476-485. <https://doi.org/10.1093/cvr/3.4.476>
- [103] Attwell D and C Iadecola. The neural basis of functional brain imaging signals. *Trends in neurosciences*, 2002; 25(12): p. 621-625. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(02\)02264-6](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(02)02264-6)
- [104] Monahan KD, I Eskurza and DR Seals. Ascorbic acid increases cardiovagal baroreflex sensitivity in healthy older men. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory*

Physiology, 2004; 286(6): p. H2113-H2117.

<https://doi.org/10.1152/ajpheart.01054.2003>

- [105] Piccirillo G. *et al.*, Influence of vitamin C on baroreflex sensitivity in chronic heart failure. *Hypertension*, 2003; 41(6): p. 1240-1245.
<https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000073581.74107.22>
- [106] Studinger P. *et al.*, Effect of vitamin E on carotid artery elasticity and baroreflex gain in young, healthy adults. *Autonomic Neuroscience*, 2004; 113(1-2): p. 63-70.
<https://doi.org/10.1016/j.autneu.2004.05.003>
- [107] Béchir M. *et al.*, Folic acid improves baroreceptor sensitivity in hypertension. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 2005; 45(1): p. 44-48.
<https://doi.org/10.1097/00005344-200501000-00008>
- [108] Riffine A. Theoretical review of the nerve-express system with sample cases. 2006.
- [109] Ribeiro EE and EE Martinez Filho. Hemodinâmica e cardiologia intervencionista: abordagem clínica, in Hemodinâmica e cardiologia intervencionista: abordagem clínica. 2008.
- [110] Crissinger KD and DL Burney. Influence of luminal nutrient composition on hemodynamics and oxygenation in developing intestine. *American Journal of Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology*, 1992; 263(2): p. G254-G260.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.1992.263.2.G254>
- [111] Hoover JC. Heart rate variability feedback monitor system. 2001, Google Patents.
- [112] Goldsmith H and R Skalak. Hemodynamics. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 1975; 7(1): p. 213-247.
<https://doi.org/10.1146/annurev.fl.07.010175.001241>
- [113] Barnes RW. Hemodynamics for the vascular surgeon. *Archives of Surgery*, 1980; 115(2): p. 216-223.
<https://doi.org/10.1001/archsurg.1980.01380020082021>
- [114] Reid IR, SM Bristow and MJ Bolland. Cardiovascular complications of calcium supplements. *Journal of cellular biochemistry*, 2015; 116(4): p. 494-501.
<https://doi.org/10.1002/jcb.25028>
- [115] Price WA. The role of a new vitamin-like activator in the control of dental caries. *Journal of the American Dental Association*, 1943; 30: p. 888-905.
<https://doi.org/10.14219/jada.archive.1943.0170>
- [116] Masterjohn C. On the trail of the elusive X-Factor, a sixty- two-year-old mystery finally solved. *Wise traditions in food, farming and healing arts Ztschr fehlt*, 2007; 8(1): p. 14-33.
- [117] Shearer MJ and P Newman. Metabolism and cell biology of vitamin K. *Thrombosis and haemostasis*, 2008; 100(10): p. 530-547.
<https://doi.org/10.1160/TH08-03-0147>
- [118] Rheaume-Bleue K. Vitamin K2 and the calcium paradox: how a little-known vitamin could save your life. 2011: John Wiley & Sons.
- [119] Chaddha A and KA Eagle. Omega-3 fatty acids and heart health. *Circulation*, 2015; 132(22): p. e350-e352.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.015176>
- [120] Sinn N and P Howe. Mental health benefits of omega-3 fatty acids may be mediated by improvements in cerebral vascular function. *Bioscience Hypotheses*, 2008; 1(2): p. 103-108.
<https://doi.org/10.1016/j.bihy.2008.02.003>
- [121] Fotuhi M, P Mohassel and K Yaffe. Fish consumption, long-chain omega-3 fatty acids and risk of cognitive decline or Alzheimer disease: a complex association. *Nature Reviews Neurology*, 2009; 5(3): p. 140-152.
<https://doi.org/10.1038/ncpneuro1044>
- [122] Ribas VR. *et al.*, The Functioning of the Brain Trained by Neurofeedback with Behavioral Techniques from a Learning Curve Perspective. *Journal of Psychology*, 2016; 3(2): p. 13.
- [123] Soares L. Natureza jurídica dos conselhos e ordens de fiscalização profissional. *Jus Navigandi*, Teresina, ano, 2012;
- 11.
- [124] Nascimento LC. Um diploma em disputa: a obrigatoriedade do diploma em jornalismo no Brasil. *Sociedade e Cultura*, 2011; 14(1): p. 141-150.
<https://doi.org/10.5216/sec.v14i1.15688>
- [125] Motta HS. Unidade 3: O Exercício Público da Profissão e o Cliente. Centro Universitário Newton Paiva: p. 37.
- [126] Board NZD. Statement of registration competency requirements. 2004; NZ Dietitians Board.
- [127] Kaslow NJ. Competencies in professional psychology. *American Psychologist*, 2004; 59(8): p. 774.
<https://doi.org/10.1037/0003-066X.59.8.774>
- [128] 81403519001, Software para processamento de sinais e imagens médicas, B.T.-C.e.S.d.E.E.L. me8.14035-1, Editor. Software 25351.362326/2016-11, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA/Brasil
- [129] Anderson E. *et al.*, LAPACK Users' guide. Vol. 9. 1999:Siam.
<https://doi.org/10.1137/1.9780898719604>
- [130] Blackford LS. *et al.*, ScaLAPACK users' guide. Vol. 4. 1997: Siam.
<https://doi.org/10.1137/1.9780898719642>
- [131] Drmač Z and K Veselić. New fast and accurate Jacobi SVD algorithm. II. *SIAM Journal on Matrix Analysis and Applications*, 2008; 29(4): p. 1343-1362.
<https://doi.org/10.1137/05063920X>
- [132] Saad Y. Iterative methods for sparse linear systems. Vol. 82. 2003: siam.
<https://doi.org/10.1137/1.9780898718003>
- [133] Tang PTP. DFTI-a new interface for Fast Fourier Transform libraries. *ACM Transactions on Mathematical Software (TOMS)*, 2005. 31(4): p. 475-507.
<https://doi.org/10.1145/1114268.1114271>
- [134] Johansen S. Estimation and hypothesis testing of cointegration vectors in Gaussian vector autoregressive models. *Econometrica: journal of the Econometric Society*, 1991; p. 1551-1580.
<https://doi.org/10.2307/2938278>
- [135] Box GE and DA Pierce. Distribution of residual autocorrelations in autoregressive-integrated moving average time series models. *Journal of the American statistical Association*, 1970; 65(332): p. 1509-1526.
<https://doi.org/10.1080/01621459.1970.10481180>
- [136] Naylor TH, TG Seaks and DW Wichern. Box-Jenkins methods: An alternative to econometric models. *International Statistical Review/Revue Internationale de Statistique*, 1972; p. 123-137.
<https://doi.org/10.2307/1402755>
- [137] Jiang ZQ and WX Zhou. Multifractal detrending moving-average cross-correlation analysis. *Physical Review E*, 2011. 84(1): p. 016106.
<https://doi.org/10.1103/PhysRevE.84.016106>
- [138] Rüdiger H, L Klinghammer and K Scheuch. The trigonometric regressive spectral analysis-a method for mapping of beat-to-beat recorded cardiovascular parameters on to frequency domain in comparison with Fourier transformation. *Computer Methods and programs in Biomedicine*, 1998; 58(1): p. 1-15.
[https://doi.org/10.1016/S0169-2607\(98\)00070-4](https://doi.org/10.1016/S0169-2607(98)00070-4)
- [139] Shusterman V and O Barnea. Sympathetic nervous system activity in stress and biofeedback relaxation. *IEEE Engineering in Medicine and biology Magazine*, 2005; 24(2): p. 52-57.
<https://doi.org/10.1109/EMEB.2005.1411349>
- [140] Malliani A. *et al.*, Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation*, 1991; 84(2): p. 482- 492.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.84.2.482>
- [141] Uchikune M, Y Yoshida and S Shirakawa. Studies on the effects of low frequency horizontal vibration to the human

body. Journal of Low Frequency Noise, Vibration and activecontrol, 1994; 13(4): p. 139-142.

<https://doi.org/10.1177/026309239401300404>

- [142] Heriot SA and M Pritchard. Test Of Time: 'Reciprocal Inhibition as the Main Basis of Psychotherapeutic Effects' by Joseph Wolpe (1954). Clinical child psychology and psychiatry, 2004; 9(2): p. 297-307.
<https://doi.org/10.1177/1359104504041928>
- [143] Wolpe J. Behavior therapy for psychosomatic disorders. Psychosomatics, 1980; 21(5): p. 379-385.
[https://doi.org/10.1016/S0033-3182\(80\)73667-8](https://doi.org/10.1016/S0033-3182(80)73667-8)
- [144] Wolpe J and J Flood. The effect of relaxation on the galvanic skin response to repeated phobic stimuli in ascending order. Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry, 1970; 1(3): p. 195-200.
[https://doi.org/10.1016/0005-7916\(70\)90002-9](https://doi.org/10.1016/0005-7916(70)90002-9)
- [145] Davini R. *et al.*, Frequência cardíaca de repouso e modulação parassimpática cardíaca em atletas idosos e idosos fisicamente ativos. Revista de ciências médicas, 2012; 13(4).
- [146] Hedman A. *et al.*, The high frequency component of heart rate variability reflects cardiac parasympathetic modulation rather than parasympathetic 'tone'. Acta Physiologica Scandinavica, 1995; 155(3): p. 267-273.
<https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1995.tb09973.x>
- [147] Shiota MN. *et al.*, Feeling good: autonomic nervous system responding in five positive emotions. Emotion, 2011. 11(6): p. 1368.
<https://doi.org/10.1037/a0024278>
- [148] Levy M. Cardiac sympathetic-parasympathetic interactions. in Federation proceedings. 1984.
- [149] Kreibig SD. Autonomic nervous system activity in emotion: A review. Biological psychology, 2010; 84(3): p. 394-421.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2010.03.010>
- [150] Agoulmine N. *et al.*, Challenges for autonomic network management. 2006.
- [151] de Albuquerque IM. *et al.*, Capacidade funcional submáxima e força muscular respiratória entre idosos praticantes de hidroginástica e dança: um estudo comparativo. Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia, 2013; 16(2): p. 327-336.
- [152] Tal N, N Shapira and R Cohen. Method of frequency domain filtering employing a real to analytic transform. 2002; Google Patents.
- [153] Vanderlei LCM. *et al.*, Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular/Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery, 2009; 24(2): p. 205-217.
<https://doi.org/10.1590/S0102-76382009000200018>
- [154] Riffine A. Method for quantitative assessment of the autonomic nervous system based on heart rate variability analysis. 2010, Google Patents.
- [155] Kaati G, LO Bygren and S Edvinsson. Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period. European journal of human genetics, 2002; 10(11): p. 682-688.
<https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200859>
- [156] Mann J and AS Truswell. Essentials of human nutrition. 2017: Oxford University Press.
- [157] Burke EJ and F Andrasik. Home-vs. clinic-based biofeedback treatment for pediatric migraine: Results of treatment through one-year follow-up. Headache: The Journal of Head and Face Pain, 1989; 29(7): p. 434-440.
<https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.1989.hed2907434.x>
- [158] Grazzi L. *et al.*, A therapeutic alternative for tension headache in children: treatment and 1-year follow-up results. Biofeedback and Self-regulation, 1990; 15(1): p. 1-6.
<https://doi.org/10.1007/BF00999072>
- [159] Holtmann M. *et al.*, Neurofeedback in children with attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD)-a controlled multicenter study of a non-pharmacological treatment approach. BMC pediatrics, 2014; 14(1): p. 202.
<https://doi.org/10.1186/1471-2431-14-202>
- [160] Kanmanthareddy A. *et al.*, Alternative medicine in atrial fibrillation treatment-Yoga, acupuncture, biofeedback and more. Journal of thoracic disease, 2015; 7(2): p. 185.
- [161] Hoff HE and L Geddes. A historical perspective on physiological monitoring: Chauveau's projecting kymograph and the projecting physiograph. 1975.

Received on 01-02-2020

Accepted on 20-02-2020

Published on 25-02-2020

DOI: <https://doi.org/10.12974/2313-1047.2020.07.1>

© 2020 Ribas *et al.*; Licensee Savvy Science Publisher.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non-commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly.