Samir Câmara Magalhães

**AVALIAÇÃO DA EXCITABILIDADE MOTORA CORTICAL E
MORFOMETRIA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NA
SÍNDROME DAS PERNAS INQUIETAS**

Tese apresentada à Sociedade Beneficente
Israelita Brasileira Albert Einstein para
obtenção do Título de Doutor em Ciências
da Saúde.

São Paulo
2018

Samir Câmara Magalhães

**AVALIAÇÃO DA EXCITABILIDADE MOTORA CORTICAL E
MORFOMETRIA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NA
SÍNDROME DAS PERNAS INQUIETAS**

Tese apresentada à Sociedade Beneficente
Israelita Brasileira Albert Einstein para
obtenção do Título de Doutor em Ciências
da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Bastos
Conforto

São Paulo
2018

M188a

Magalhães, Samir Câmara

Avaliação da excitabilidade motora cortical e morfometria por ressonância magnética na síndrome das pernas inquietas /

Samir Câmara Magalhães. -- São Paulo, 2017.

xvi; 90 f., il.

Tese (Doutorado) – Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Albert Einstein, Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Título em inglês: *Evaluation of cortical motor excitability and morphometry by magnetic resonance in restless legs syndrome.*

1. Síndrome das pernas inquietas. 2. Estimulação magnética transcraniana. 3. Espectroscopia de ressonância magnética.

NLM - WL 108

SOCIEDADE BENEFICENTE ISRAELITA BRASILEIRA ALBERT EINSTEIN

Coordenador do Curso de Pós-Graduação: Prof. Dr. Luiz Vicente Rizzo

Samir Câmara Magalhães

**AVALIAÇÃO DA EXCITABILIDADE MOTORA CORTICAL E
MORFOMETRIA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NA SÍNDROME
DAS PERNAS INQUIETAS**

Presidente da banca: Profa. Dra. Adriana Bastos Conforto

BANCA EXAMINADORA

Membros titulares:

Profa. Dra. Patrícia Maria de Carvalho Aguiar

Prof. Dr. Fernando Morgadinho Santos Coelho

Prof. Dr. Wellingson Silva Paiva

Membros suplentes:

Prof. Dr. João Ricardo Sato

Prof. Dr. Manoel Alves Sobreira Neto

Aprovada em: 18/05/2018.

Dedicatória

Aos meus pais pelo apoio irrestrito e dedicação imensurável no incentivo à minha formação ética, moral e técnica.

Aos meus irmãos que, sendo parte integrante de uma família unida e querida, não faltaram com seu suporte e confiança durante todos esses anos.

À minha esposa, Fabrícia, que desde a minha primeira intenção de engajar nesse projeto, incentivou e participou ativamente para que o êxito fosse alcançado.

Aos meus filhos, que na linha da vida vieram depois do início desse projeto, mas que são a minha felicidade maior e os maiores motivadores para que eu busque o sucesso na ciência.

Aos meus professores inspiradores em especial ao Prof. Dr. Alan Eckeli que acompanhou meus passos na descoberta e no aprofundamento do saber da medicina do Sono e à Profa. Dra. Adriana Conforto que abriu as portas do conhecimento em neuroestimulação e tornou possível todo esse trabalho.

Agradecimentos

Meus sinceros votos de agradecimentos à minha estimada orientadora, Profa. Dra. Adriana Bastos Conforto, por ter acreditado em mim, mesmo eu vindo do desconhecido. Não hesitou em me dar um voto de confiança, apostar na ideia de trabalhar com medicina do sono em conjunção com sua expertise e por ter compartilhado comigo seu precioso tempo e conhecimento. Devo grande parte do meu aprendizado em metodologia e escrita científica e técnicas de neuroestimulação a ela.

Ao estimado Prof. Dr. Edson Amaro Jr. por todo seu empenho e tempo dedicados ao meu aprendizado em técnicas de processamento de imagens, que ampliaram meu conhecimento médico e por seu esforço em analisar e interpretar os dados dessa pesquisa.

Aos professores Dr. Gilmar do Prado, Dra. Lucila Bizari, Dra. Luciane Bizari e Dr. Fernando Morgadinho e toda equipe do Ambulatório de Sono e da Associação Brasileira de Portadores da Síndrome das Pernas Inquietas (ABRASPI) pelo interesse na pesquisa, pelo conhecimento compartilhado e pela participação direta e indireta na viabilidade dessa pesquisa.

À minha colaboradora principal nesse projeto e amiga, Joselisa Paiva, por ter trazido ânimo, vigor e motivação para seguirmos em frente em um momento difícil da coleta de dados e, após isso, ter ajudado de modo continuado em toda a análise e debates relacionados à nossa pesquisa.

Aos colaboradores do Hospital Israelita Albert Einstein que se envolveram nessa pesquisa, em especial as enfermeiras de pesquisa Alda de Castro e Karina Correa, e as biomédicas Liana Sanches e Bruna Portes, pelo esforço conjunto no recrutamento e coleta de dados dos voluntários.

Às estudantes de iniciação científica que participaram e colaboraram para o desenvolvimento desse estudo, em especial a acadêmica de enfermagem Bruna Calciolare que foi peça fundamental para conseguirmos recrutar tantos voluntários.

Aos professores e equipe assistencial do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu da Sociedade Beneficente Israelita Brasileira pelo conhecimento compartilhado e pela dedicação com os alunos.

Em especial, agradeço a Deus por ter me abençoado com o dom da vida e com a saúde, que por pouco me fugiu, mas foi-me garantida por meio dele e fez-me capaz de levar este projeto a frente.

Agradeço a cada um dos voluntários que de forma anônima ajudaram no engrandecer da ciência e no meu crescimento pessoal com cada história de vida, experiência compartilhada e envolvimento com o projeto. A eles meu maior apreço.

Agradeço à minha esposa, Fabrícia Torres, por sua dedicação infindável a mim, sua compreensão nas horas difíceis, sua parceria nos momentos imprescindíveis e sua entrega pessoal nesse projeto.

Agradeço à Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Albert Einstein pelo seu apoio irrestrito à execução dessa pesquisa, por acreditar no desenvolvimento da ciência e nas pessoas do nosso país.

Agradecimentos especiais

À Sociedade Beneficente Israelita Brasileira
Albert Einstein pelo apoio financeiro para
realização deste estudo.

Sumário

Dedicatória	v
Agradecimentos.....	vi
Agradecimentos especiais.....	viii
Lista de figuras	xii
Lista de tabelas	xiii
Lista de abreviaturas e símbolos	xv
Resumo	xvi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Estimulação magnética transcraniana	1
1.1.1 Estudos de estimulação magnética transcraniana em síndrome das pernas inquietas	2
1.2 Análise morfométrica por ressonância magnética	3
1.3 Objetivos.....	4
2 REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1 Síndrome das pernas inquietas	5
2.1.1 Histórico, definições e impacto	5
2.1.2 Fisiopatologia: informações disponíveis e como avançar na investigação	7
2.2 Estimulação magnética transcraniana	8
2.2.1 Histórico e princípios	8
2.2.2 Medidas de excitabilidade cortical por estimulação magnética transcraniana	10
2.2.3 Modulação da excitabilidade à estimulação magnética transcraniana	13
2.2.3.1 Exercício.....	13
2.2.3.2 Substâncias	14
2.2.4 Parâmetros de excitabilidade cortical por estimulação magnética transcraniana em síndrome das pernas inquietas.....	14
2.2.4.1 Excitabilidade motora avaliada por estimulação magnética transcraniana	15
2.2.4.2 Estudos de avaliação sem administração de intervenções	15
2.2.4.2.1 Medidas por estimulação magnética transcraniana de pulso único.....	15
2.2.4.2.2 Medidas por estimulação magnética transcraniana de pulso-pareado	16
2.2.4.3 Estudos com efeitos de intervenções	17
2.2.4.3.1 Exercícios	17
2.2.4.3.2 Efeitos de medicações.....	17

2.2.5 Relevância da estimulação magnética transcraniana na compreensão dos mecanismos subjacentes à síndrome das pernas inquietas.....	23
2.2.6 Limitações da estimulação magnética transcraniana em síndrome das pernas inquietas	26
2.2.7 Perspectivas de estudos de estimulação magnética transcraniana em síndrome das pernas inquietas	27
2.3 Estudos de morfometria cerebral por ressonância magnética.....	28
2.3.1 Relevância de estudos morfométricos em geral	28
2.3.2 Morfometria baseada em voxels.....	29
2.3.2.1 Estudos com morfometria baseada em voxels em síndrome das pernas inquietas	29
2.3.3 Análise de superfície cortical com ressonância magnética.....	33
2.3.3.1 Estudos de análise de superfície cortical com ressonância magnética em síndrome das pernas inquietas.....	35
3 MÉTODOS	36
3.1 Participantes.....	36
3.1.1 Critérios de elegibilidade	36
3.1.2 Características dos participantes.....	37
3.2 Desenho experimental.....	38
3.3 Desfechos.....	38
3.4 Tamanho amostral.....	39
3.5 Protocolo de estimulação magnética transcraniana	39
3.5.1 Medidas de estimulação magnética transcraniana no estudo	41
3.5.1.1 Limiares motores	41
3.5.1.2 Período silente cortical	41
3.5.1.3 Inibição Intracortical.....	42
3.6 Ressonância magnética	43
3.6.1 Aquisição de imagens de ressonância magnética	43
3.6.2 Processamento da ressonância magnética	44
3.7 Análise estatísticas.....	45
3.7.1 Características dos indivíduos.....	45
3.7.2 Desfechos de estimulação magnética transcraniana	45
3.7.3 Análise morfométrica de ressonância magnética	46
3.8 Aspectos éticos	47

4 RESULTADOS	48
4.1 Seleção de participantes	48
4.2 Características dos indivíduos	53
4.3 Desfechos de estimulação magnética transcraniana	55
4.3.1 Desfecho primário: inibição intracortical	55
4.3.2 Análises post-hoc de inibição intracortical	56
4.3.3 Desfechos secundários: outras medidas de estimulação magnética transcraniana	57
4.4 Resultados de análise morfométrica de ressonância magnética	58
4.4.1 Análise por regiões de interesse	58
4.4.2 Análise do cérebro inteiro	59
5 DISCUSSÃO	66
5.1 Inibição intracortical	66
5.2 Outros desfechos de estimulação magnética transcraniana	69
5.3 Análise morfoétrica de ressonância magnética de encéfalo	71
5.4 Limitações	74
6 CONCLUSÕES	75
7 REFERÊNCIAS	76
Abstract	

Lista de figuras

Figura 1. Indução de correntes elétricas no cérebro através de pulsos magnéticos aplicados através de uma bobina em 8 posicionada sobre a cabeça.....	9
Figura 2. Período silente cortical – aquisição realizada no músculo abdutor do dedo mínimo direito após um pulso único de estimulação magnética transcraniana sobre o hemisfério esquerdo (córtex motor)	11
Figura 3. Inibição intracortical por intervalo curto	12
Figura 4. Atlas de parcelamento cortical de Desikan-Killiany	34
Figura 5. Delimitação de superfície pial e fronteira da substância branca e cinzenta...	34
Figura 6. A. Sala de experimentos de estimulação magnética transcraniana. B. Montagem de eletrodos para captação de potenciais evocados motores em músculo abdutor do dedo mínimo.....	40
Figura 7. Entrada de voluntários no grupo de portadores de síndrome das pernas inquietas para os exames de estimulação magnética transcraniana.....	49
Figura 8. Entrada de voluntários no grupo de controles para os exames de estimulação magnética transcraniana	50
Figura 9. Entrada de voluntários no grupo de portadores de síndrome das pernas inquietas para os exames de ressonância magnética	51
Figura 10. Entrada de voluntários no grupo de controles para os exames de ressonância magnética.....	52
Figura 11. Pontuações na escala de sonolência de Epworth em subgrupos de análise (média±desvio padrão)	54
Figura 12. Valores da inibição intracortical por grupos	56
Figura 13. Dados de inibição intracortical para discriminar a presença de síndrome das pernas inquietas entre os indivíduos do estudo.....	57

Lista de tabelas

Tabela 1. Estudos que avaliaram a excitabilidade motora cortical em portadores de síndrome das pernas inquietas virgens de tratamento ou sem mencionar o estado de uso de medicações, nenhuma intervenção foi realizada	19
Tabela 2. Estudos que avaliaram a excitabilidade cortical antes e após intervenções medicamentosas específicas no tratamento da síndrome das pernas inquietas, em indivíduos virgens de tratamento.....	20
Tabela 3. Estudos que avaliaram a excitabilidade motora cortical antes e após tratamentos específicos em síndrome das pernas inquietas, em indivíduos previamente tratados.....	21
Tabela 4. Estudos que avaliaram a excitabilidade cortical durante tratamento medicamentoso em portadores de síndrome das pernas inquietas (estado de tratamento prévio indefinido)	22
Tabela 5. Resumo dos estudos envolvendo análise morfométrica por ressonância magnética em portadores de síndrome das pernas inquietas	31
Tabela 6. Características pessoais e avaliações do sono dos pacientes, segundo o grupo de estudo.....	53
Tabela 7. Características da síndrome das pernas inquietas e avaliações dos pacientes, segundo grupos de gravidade dos sintomas.....	54
Tabela 8. Parâmetros de excitabilidade motora cortical por grupo de estudo.....	58
Tabela 9. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de espessura cortical (micrômetros) em áreas específicas do hemisfério direito em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas independente da gravidade	59
Tabela 10. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de volume de estruturas subcorticais (micrômetros cúbicos) do hemisfério direito em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas independente da gravidade	60
Tabela 11. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de espessura cortical (micrômetros) em áreas específicas do hemisfério esquerdo em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas independente da gravidade	61
Tabela 12. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de volume de estruturas subcorticais (micrômetros cúbicos) do hemisfério esquerdo em	

controles e portadores de síndrome das pernas inquietas independentemente da gravidade.....	62
Tabela 13. Valores de poder estatístico de análise de estruturas subcorticais considerando diferença de pelo menos 10%, através da ferramenta FSpwr	62
Tabela 14. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de espessura (micrômetros) no hemisfério direito em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave	62
Tabela 15. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de volume de estruturas subcorticais (micrômetros cúbicos) no hemisfério direito em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave.....	63
Tabela 16. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de espessura (micrômetros) no hemisfério esquerdo em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave	64
Tabela 17. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de volume de estruturas subcorticais (micrômetros cúbicos) no hemisfério esquerdo em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave.....	65

Lista de abreviaturas e símbolos

μV	Microvolts
DAT	Enzima transportadora de dopamina (<i>Dopamine transporter</i>)
DP	Desvio-padrão
DTI	Imagem de tensor de difusão (<i>Diffusion tensor imaging</i>)
EMT	Estimulação magnética transcraniana
EMT-p	Estimulação magnética transcraniana por pulso único
EMT-pp	Estimulação magnética transcraniana por pulso pareado
FIC	Facilitação intracortical
FWHM	<i>Full width at half maximum</i>
IIC	Inibição intracortical por interval curto
IRLSS	Escala de gravidade de sintomas de síndrome das pernas inquietas do <i>International Restless Legs Syndrome Study Group</i>
IRLSSG	Grupo Internacional de Estudos em Síndrome das Pernas Inquietas (<i>International Restless Legs Syndrome Study Group</i>)
LMa	Limiar motor em atividade
LMr	Limiar motor em repouso
ms	Milissegundos
PAS	<i>Paired-associative stimulation</i>
PEM	Potencial evocado motor
PLM	Movimento periódico das pernas (<i>Periodic legs movements</i>)
PLMS	Movimentos periódicos dos membros no sono
PSC	Período silente cortical
PSG	Polissonografia de noite inteira
RM	Ressonância magnética
SGPP	Sistema gestor de projetos de pesquisa
SPI	Síndrome das pernas inquietas
SPI-lm	Síndrome das pernas inquietas com intensidade leve e moderada
SPI-mg	Síndrome das pernas inquietas com intensidade grave e muito grave
SPI-tot	Todos os voluntários portadores de síndrome das pernas inquietas, independentemente da gravidade

Resumo

Objetivos: Testar a hipótese de que há uma diferença significativa na inibição intracortical entre indivíduos saudáveis e pacientes com síndrome das pernas inquietas de acordo com a gravidade da doença. Comparar o limiar motor em repouso e em atividade e o período silente cortical em portadores de síndrome das pernas inquietas e controles. Testar com o *FreeSurfer* se há uma redução significativa na quantificação de substância cinzenta no córtex motor primário e sensitivo primário, nos caudados, globos pálidos, putâmens ou tálamos, bilateralmente, entre portadores de síndrome das pernas inquietas e controles. **Métodos:** Foram recrutados voluntários com síndrome das pernas inquietas e indivíduos saudáveis. A estimulação magnética transcraniana foi aplicada ao córtex motor dominante com pulsos simples e pareados e os dados comparados por ANOVA *one-way*. Foi realizada análise post-hoc para definir um limiar de inibição intracortical que pudesse distinguir grupos de portadores de síndrome das pernas inquietas e controles com área sob a curva ROC de pelo menos 0,70. A análise morfométrica de superfície cortical foi realizada pelo *FreeSurfer*, por comparação de cérebro total e por áreas de interesse. **Resultados:** Dados de 34 portadores de síndrome das pernas inquietas e 24 controles foram utilizados na análise de dados de estimulação magnética transcraniana. A inibição intracortical foi significativamente menor no grupo de síndrome das pernas inquietas com formas graves/muito graves e no grupo de formas leves/moderadas em comparação aos controles ($F=8,83$; $p=0,001$). Não foram encontradas diferenças entre controles e portadores de síndrome das pernas inquietas quanto aos parâmetros de limiar motor em repouso ou atividade e período silente cortical. A curva ROC revelou um ponto de corte de inibição intracortical de 31,5% para diferenciação entre os grupos síndrome das pernas inquietas e controles. A análise por *FreeSurfer* foi realizada em 35 portadores de síndrome das pernas inquietas e 26 controles. Não foram encontrados *clusters* relevantes na análise de cérebro total, assim como na análise de regiões de interesse. **Conclusões:** Os resultados corroboram a presença de disfunção em interneurônios GABA_A do córtex motor em portadores de síndrome das pernas inquietas, independentemente da gravidade dos sintomas. A análise por superfície cortical por *FreeSurfer* não mostrou diferenças entre os portadores de síndrome das pernas inquietas e controles, sugerindo que não há anormalidades estruturais detectáveis por esse método nesta condição.

1 INTRODUÇÃO

A síndrome das pernas inquietas (SPI) é uma doença neurológica caracterizada por uma sensação de desconforto nos membros associada a uma necessidade irresistível de movimentá-los. A movimentação das pernas traz alívio aos sintomas que têm flutuação circadiana, início mais comumente no período noturno e melhora significativa no período matutino e vespertino, independentemente da atividade.⁽¹⁾ A doença atinge até 6,4% da população adulta no nosso país em algum momento da vida e é mais frequente em mulheres e idosos.^(2,3)

São conhecidas duas formas da doença:⁽¹⁾ a primária, associada a fatores hereditários e na qual não há alterações em exame físico ou em exames subsidiários, e a secundária, que vem associada a outras condições como uremia, polineuropatias, distúrbios tireoidianos ou hormonais, doença de Parkinson, deficiência de ferro e gestação.

Os mecanismos fisiopatológicos da SPI ainda não estão completamente claros. Estudos mostram que uma disfunção de vias dopaminérgicas com flutuação circadiana pode desencadear os sintomas.⁽⁴⁻⁶⁾ Além disso, o uso de agentes dopaminérgicos é um dos principais tratamentos disponíveis, tendo boa efetividade na doença.⁽⁷⁾

É provável que uma rede complexa de alterações funcionais por todo o sistema nervoso esteja envolvida na fisiopatologia da SPI. Diversos estudos mostraram o envolvimento de estruturas corticais,⁽⁸⁾ subcorticais,⁽⁹⁾ medulares e periféricas⁽⁶⁾ na doença. Entretanto, os estudos relacionados aos mecanismos subjacentes a esta condição, por vezes carecem de rigor metodológico, dificultando a determinação do papel de cada região na gênese da doença.⁽¹⁰⁾

1.1 Estimulação magnética transcraniana

A estimulação magnética transcraniana (EMT)⁽¹¹⁾ é um método de vanguarda utilizado na investigação fisiológica e na modulação da atividade cortical. Várias doenças neurológicas têm sido investigadas por meio da EMT e seu uso terapêutico está definido em algumas condições psiquiátricas e neurológicas.⁽¹¹⁻¹⁶⁾ Na EMT há uma mudança rápida de um campo magnético induzido por uma corrente

elétrica, gerando no córtex cerebral um campo elétrico aproximadamente paralelo à orientação da bobina.^(12,17-19) A corrente elétrica induzida é capaz de levar à despolarização neuronal e, conseqüentemente, gerar impulsos nervosos.

Há diferentes modalidades de EMT diagnóstica, como a EMT por pulso único e a por pulso pareado. Ambas se complementam na investigação fisiológica de processos neurais. A EMT por pulso único pode nos fornecer dados como: limiares motores em repouso ou em atividade e período silente cortical. Os limiares motores refletem a excitabilidade de membrana neuronal dependente de canais iônicos de motoneurônios inervados pelo trato corticoespinhal. Já a duração do período silente cortical reflete, em sua primeira porção (até 50-75 milissegundos), a inibição de neurônios motores alfa espinhais e, a segunda porção, a atividade de receptores GABAB de interneurônios corticais.^(20,21) A EMT por pulso pareado pode fornecer dados de inibição intracortical por período curto e de facilitação intracortical. A primeira reflete a atividade de receptores GABAA de interneurônios corticais⁽²²⁾ e a segunda depende de atividade neuronal relacionada a receptores glutamatérgicos.⁽²³⁾

1.1.1 Estudos de estimulação magnética transcraniana em síndrome das pernas inquietas

A fisiopatologia da SPI foi investigada por meio da EMT em uma série de estudos (Tabelas 1-4). Até o momento, não foram encontradas alterações relevantes em parâmetros de limiar motor em repouso ou atividade, exceto por um discreto aumento do limiar motor em atividade no período noturno em estudo pequeno (n=6) realizado durante o dia e a noite.⁽²⁴⁾ Estudos envolvendo as medidas de período silente cortical mostraram resultados discrepantes a depender dos métodos, tipos de bobina, músculos estudados e horários dos experimentos (Tabelas 1-4). Entretanto em sua maioria, os estudos não mostraram uma alteração consistente do período silente cortical nos portadores de SPI, indicando uma provável ausência de disfunção gabaérgica de receptores GABAB nesta condição.

Estudos com metodologia de pulso pareado não mostraram alterações consistentes da facilitação intracortical. Já em relação à inibição intracortical por intervalo curto, há uma redução de sua magnitude nos portadores da doença, que pode ser corrigida com medicações específicas (Tabelas 2-4). Esse fator sugere que

na SPI pode haver um papel fisiopatológico dos receptores GABAA. Entretanto, não é claro se há uma correlação entre redução da inibição intracortical e a gravidade dos sintomas de SPI ou se esta medida de EMT é um marcador independente da gravidade em portadores da doença. Definir essa questão está entre nossos objetivos.

1.2 Análise morfométrica por ressonância magnética

A ressonância magnética (RM) permite uma análise estrutural refinada de estruturas do sistema nervoso central. Diversas técnicas de avaliação de imagens de RM do encéfalo têm sido aplicadas em estudos clínicos e fisiopatológicos de condições neurológicas.^(25–27)

Análises estruturais automatizadas são aliadas na análise submilimétrica e dispendiosa de alterações patológicas cerebrais. Estes métodos reduzem custos, tempo e abrem possibilidades de investigações não invasivas de estruturas cerebrais.^(27–29) Dentre as técnicas automatizadas destacam-se a morfometria baseada em voxels e a análise baseada em superfície.

A morfometria baseada em voxels é a técnica mais amplamente utilizada e já foi aplicada em uma série de doenças^(27,30) (Tabela 5). Baseia-se na medida de intensidade de sinal em voxels para estimar a quantidade de substância cinzenta e substância branca no cérebro. Estudos de morfometria baseada em voxels em portadores de SPI apresentam resultados não congruentes entre si. Em sua maioria os estudos não evidenciam alterações estruturais em substância cinzenta. Quando ocorrem associações entre reduções ou incrementos regionais de substância cinzenta e a presença da doença, estas são descritas em poucos estudos, os quais, em geral, não corrigem os dados para múltiplas comparações.⁽³¹⁾ A variabilidade na seleção de pacientes, nos campos magnéticos dos aparelhos utilizados (1,5 ou 3,0 Tesla), o uso prévio de medicações pelos pacientes e os tamanhos amostrais podem ser fatores que contribuem para a não uniformidade dos resultados.

A avaliação morfométrica por análise de superfície é uma abordagem que produz mapas corticais não dependentes da resolução de voxels dos exames e capaz de detectar diferenças submilimétricas entre grupos.^(26,29) Este método realiza a medição da espessura cortical e também é capaz de realizar uma segmentação de estruturas subcorticais. Dados de mapas de áreas cerebrais⁽³²⁾ podem

ser extraídos e analisados com ferramentas estatísticas externas ao *software*. Além disso, pode-se utilizar ferramentas do próprio programa de processamento de imagens para a comparação estrutural entre grupos.

Até o momento, não há estudos aplicando a técnica de análise de superfície para comparar exames de indivíduos com SPI e indivíduos saudáveis. Visto que este método gera dados diferentes dos de morfometria baseada em voxels e que ainda não há consenso na literatura sobre alterações estruturais de substância cinzenta em regiões motoras ou somatossensoriais primárias, assim como estruturas subcorticais (caudados, globos pálidos, putâmens e tálamos), este estudo visa comparar a espessura cortical e o volume de estruturas subcorticais em SPI e em controles saudáveis.

1.3 Objetivos

1. Testar a hipótese de que existe uma diferença significativa na inibição intracortical no córtex motor do hemisfério dominante entre controles e pacientes com síndrome das pernas inquietas de acordo com a gravidade da doença.

2. Testar as seguintes hipóteses: existe uma diferença significativa na duração do período silente cortical, entre controles e pacientes com síndrome das pernas inquietas de acordo com a gravidade da doença; não existe uma diferença significativa no limiar motor (em repouso ou em atividade) entre controles e pacientes com síndrome das pernas inquietas (qualquer nível de gravidade); existe uma redução significativa na quantificação de substância cinzenta medida por morfometria baseada em análise de superfície no córtex motor primário, no córtex sensitivo primário, no núcleo caudado, globo pálido, putâmen ou tálamo, bilateralmente, em portadores de síndrome das pernas inquietas quando comparados a controles.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Síndrome das pernas inquietas

2.1.1 Histórico, definições e impacto

A SPI é uma doença neurológica descrita pela primeira vez em 1672 por Thomas Willis e redescoberta por Ekbom⁽³³⁾ em 1945. É caracterizada por sensação de desconforto nos membros associada a uma necessidade irresistível de movimentá-los. A movimentação da parte afetada traz alívio aos sintomas que têm flutuação circadiana, início mais comumente no período noturno e melhora significativa no período matutino e vespertino, independentemente da atividade.⁽¹⁾

Estudos populacionais mostram que os sintomas de SPI ocorrem em média em 6,4% da população brasileira⁽²⁾ e são mais comuns em mulheres. Embora tenha sido identificado um aumento da prevalência e o agravamento dos sintomas com a idade, o início da sintomatologia varia e pode ocorrer na infância.⁽³⁴⁾ Critérios diagnósticos propostos em 2003 e revisados em 2014 pelo *International Restless Legs Syndrome Study Group* (IRLSSG), ao serem aplicados nas populações em geral, mostram prevalências de 3,9 a 14,3%.^(1,3,35) Em um terço dos pacientes com SPI grave, os sintomas iniciam-se antes dos 20 anos de idade, embora o diagnóstico preciso de SPI possa ser definido muito mais tarde.⁽³⁶⁾

Existem duas formas etiológicas de SPI:

- A forma idiopática apresenta-se mais precocemente, acomete indivíduos adultos jovens e se mantém durante a vida. Uma origem genética é provável, pois há uma associação familiar que varia entre 40 e 60% através de uma herança provavelmente autossômica dominante, de penetrância variável.^(37–39)

- As formas secundárias são encontradas em indivíduos com deficiência de ferro, gestação, insuficiência renal crônica, neuropatias periféricas, doença vascular periférica, uso de tabaco, distúrbios hormonais e metabólicos, sendo mais comuns em idosos.⁽³⁴⁾ Além disso, os sintomas podem ser exacerbados ou podem ocorrer de forma secundária ao uso de drogas como inibidores seletivos da receptação de serotonina,⁽⁴⁰⁾ antidepressivos tricíclicos,⁽⁴¹⁾ antagonistas dopaminérgicos,⁽⁴²⁾ lítio⁽⁴³⁾ e cafeína.⁽⁴⁴⁾

O diagnóstico de SPI baseia-se em dados de história clínica e exame físico, sendo que critérios diagnósticos propostos pelo IRLSSG em 2003,⁽³⁵⁾ revisados em 2014,⁽¹⁾ auxiliam na definição da síndrome durante a anamnese. Por vezes após avaliação especializada, torna-se necessária a realização de exames complementares. A polissonografia de noite inteira e o teste de imobilização sugerida podem revelar movimentos espontâneos dos membros que se correlacionam com a presença e gravidade da SPI.^(1,45-47)

A presença de movimentos periódicos de pernas (PLM - *periodic legs movements*) no exame de polissonografia de noite inteira durante o sono ou em vigília ocorre em mais de 80% dos pacientes com SPI e pode corroborar a suspeita diagnóstica.⁽⁴⁸⁾ Aproximadamente 85% dos pacientes com SPI apresentam aumento do índice de movimentos de pernas na polissonografia (PLMs >15/hora).^(35,45) Ao adicionar esse parâmetro aos critérios propostos pelo IRLSSG há um incremento de 10% na acurácia diagnóstica.⁽⁴⁹⁾

A gravidade dos sintomas pode ser mensurada por meio de uma escala de gravidade de sintomas de SPI do IRLSSG.⁽⁵⁰⁾ A escala abrange 10 itens e é preenchida pelos pacientes acerca da frequência e da intensidade dos sintomas na semana anterior à aplicação do questionário. As respostas vão de 0 a 4, sendo que quanto maior o valor, piores os sintomas, atingindo um total máximo de 40 pontos. Essa escala permite classificar os portadores em grupos de gravidade distintos conforme sua pontuação, sendo que valores entre 0-10 são considerados formas leves; 11-20, moderadas; 21-30, graves e 31-40 muito graves.^(37,50,51)

Os sintomas de SPI podem ocasionar insônia (inicial e manutenção), fragmentação do sono e sonolência excessiva diurna.^(52,53) A qualidade de vida de pacientes com SPI em intensidades moderada, grave e muito grave é reduzida de forma substancial, sendo semelhante à de doenças crônicas como osteoartrite, depressão, diabetes, insuficiência cardíaca crônica, artrite reumatoide e polineuropatias.^(54,55) Adicionalmente, acredita-se que a ativação adrenérgica que ocorre imediatamente antes do movimento de pernas durante o sono possa aumentar a morbidade cardiovascular em pacientes com SPI.⁽⁵⁶⁾

Vários tratamentos foram propostos para a síndrome, desde medidas não farmacológicas como atividade física e higiene do sono, até medidas farmacológicas como agonistas dopaminérgicos,⁽⁵⁷⁾ alfa-2-delta-ligantes, benzodiazepínicos e opioides para uso em um horário que anteceda o início dos

sintomas. Foi comprovado que intervenções terapêuticas medicamentosas, principalmente devido ao uso de agonistas dopaminérgicos, reduzem sintomas sensitivos e movimentos periódicos dos membros durante o sono.^(58,59) Contudo, eventos adversos podem ocorrer tais como náuseas, cefaleia, sonolência e edema de membros inferiores. O uso crônico de agentes dopaminérgicos pode levar à tolerância e ao fenômeno de “aumentação”, que obedece a critérios estabelecidos pelo IRLSSG: (1) sintomas sensitivo-motores que passam a ocorrer duas horas ou menos antes do horário indicado pelo paciente e eventualmente desaparecimento das características circadianas (expansão temporal); (2) Piora dos sintomas com aumento da dose de levodopa ou agonistas dopaminérgicos e melhora com a diminuição dessas drogas. A piora dos sintomas pode atingir níveis acima daqueles pré-tratamento.^(5,60,61) Tal fenômeno predomina com uso de agentes dopaminérgicos, sendo mais frequente em pacientes tratados com levodopa (em até 60%).⁽⁶²⁾ Por isso, novos tratamentos eficazes são altamente desejáveis. A compreensão da fisiopatologia da SPI é crucial para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

2.1.2 Fisiopatologia: informações disponíveis e como avançar na investigação

A gênese dos sintomas relatados na SPI é incerta. Várias hipóteses foram propostas, principalmente envolvendo vias dopaminérgicas centrais e modulação de centros inibitórios medulares sobre a movimentação dos membros inferiores durante o sono.⁽⁶³⁾ O envolvimento de vias dopaminérgicas tem sido avaliado por estudos funcionais do metabolismo cerebral com técnicas de PET/SPECT mostrando resultados variáveis nas regiões estriatais e extra-estriatais. Alguns estudos com PET avaliando compartimentos pré-sinápticos usando [18F]dopa mostraram uma discreta redução de ligação do marcador no caudado e putâmen,^(64,65) enquanto outros não encontraram anormalidades.⁽⁶⁶⁾

Os estudos com PET com [11C]racloprida, que é um ligante de receptores D2 e marcador de sua atividade, reportaram uma redução de ligação estriatal, interpretada como um aumento na dopamina sináptica.^(64,67) Entretanto, outro estudo com marcação por [11C]racloprida mostrou redução de ligação em estruturas límbicas, porém não em regiões nigroestriatais.⁽⁶⁸⁾ Estudos com SPECT não encontraram disfunções em terminais pré-sinápticos em sua maioria.^(69,70) Para

receptores pós-sinápticos D2 de dopamina, um estudo com SPECT mostrou ausência de alterações⁽⁷¹⁾ e outros, menor ligação de marcadores de receptores de dopamina em regiões estriatais.^(67,69)

A disfunção dopaminérgica poderia estar ligada a alterações no metabolismo do ferro no cérebro, com alguns estudos mostrando redução de depósitos de ferro na substância negra^(39,72) e associação de SPI com níveis baixos de ferritina sérica e líquórica.⁽⁷³⁻⁷⁶⁾ Os baixos níveis de ferro intracelular levam a um aumento da função da tirosina-hidroxilase e a uma redução da função da enzima transportadora de dopamina (DAT - *dopamine transporter*), ocasionando um aumento da dopamina extracelular durante o dia.^(77,78) Foi demonstrado que a flutuação circadiana dos níveis de ferro e de dopamina levam a níveis diurnos de dopamina sináptica até quatro vezes maiores que no período noturno.⁽⁷⁹⁾ Essa diferença entre a disponibilidade de dopamina na fenda sináptica durante o dia e a noite, explica a maior frequência dos sintomas a noite e a dessensibilização de receptores pós-sinápticos D2.⁽⁸⁰⁾

Alterações estruturais cerebrais também foram implicadas na SPI. Ratos submetidos a lesão da área A11, considerada como única projeção dopaminérgica encefálica para neurônios motores da medula espinhal, apresentam comportamentos sugestivos de sintomas da SPI, em um modelo experimental para a doença.⁽⁸¹⁾ Em humanos, ainda não foi comprovada a influência destes neurônios da área A11 na fisiopatologia desta condição.^(82,83)

2.2 Estimulação magnética transcraniana

2.2.1 Histórico e princípios

A EMT foi apresentada em 1985 por Anthony Barker⁽¹¹⁾ como um método não invasivo para investigação fisiológica e modulação da atividade cortical. Várias doenças neurológicas têm sido investigadas por meio da EMT e seu uso terapêutico está definido em algumas condições psiquiátricas e neurológicas.⁽¹¹⁻¹⁶⁾ Na EMT, a mudança rápida de um campo magnético induzido por uma corrente elétrica gera no córtex cerebral um campo elétrico aproximadamente paralelo à orientação da bobina (Figura 1).^(12,13,18,19) Uma corrente elétrica então despolariza neurônios no

cérebro tanto diretamente como indiretamente através de aferências pré-sinápticas.^(14,84)

EMT: estimulação magnética transcraniana. Setas pretas no cérebro: correntes elétricas. Linhas pontilhadas: pulsos magnéticos.

Fonte: Adaptado e traduzido com permissão de Macmillan Publishers: Nature Reviews Neuroscience. Ridding MC, Rothwell JC. Is there a future for therapeutic use of transcranial magnetic stimulation? Nat Rev Neurosci. 2007;8:559–67.⁽⁸⁵⁾

Figura 1. Indução de correntes elétricas no cérebro através de pulsos magnéticos aplicados através de uma bobina em 8 posicionada sobre a cabeça

Existem várias modalidades diagnósticas de EMT, sendo as mais utilizadas a estimulação magnética transcraniana por pulso único (EMT-p) e/ou com estimulação magnética transcraniana por pulso pareado (EMT-pp). Ambas são empregadas em estudos fisiológicos de excitabilidade sobre diversos tratos e regiões cerebrais, mais comumente o trato corticoespinal. De acordo com a principal teoria sobre o mecanismo de ação da EMT, são ativados interneurônios situados à pequena distância da superfície cortical e que mantêm conexões sinápticas com o trato corticoespinal. A estimulação indireta (trans-sináptica) ou direta do trato corticoespinal pode promover excitação de circuitos motores medulares e finalmente, de unidades motoras. Através de eletrodos de superfície colocados sobre músculos contralaterais ao hemisfério estimulado, registra-se o potencial evocado motor que representa a ativação de fibras musculares das unidades motoras estimuladas.^(11–16)

2.2.2 Medidas de excitabilidade cortical por estimulação magnética transcraniana

Diversas medidas neurofisiológicas podem ser adquiridas por meio de paradigmas de EMT.

1. Limiares motores: o limiar motor em repouso pode ser definido como a menor intensidade de estímulo capaz de evocar potenciais evocados motores de amplitude de no mínimo 50 μ V, após pelo menos 50% dos pulsos aplicados (por exemplo, 3 dentre 6 pulsos ou 5 dentre 10 pulsos), quando o músculo-alvo está em repouso.^(17,86) Esta medida reflete a excitabilidade da membrana dos neurônios da via motora e depende da integridade da mesma (interneurônios corticais, neurônios corticoespinhais e neurônios medulares).^(12-14,87) Quanto maior o limiar motor, menor a excitabilidade neuronal. Enquanto o limiar motor em repouso exige um relaxamento completo das vias e músculos estudados, o limiar motor em atividade é mensurado durante uma contração voluntária leve. Usualmente, o limiar motor em atividade é menor que o limiar motor em repouso.⁽⁸⁷⁾ Drogas que bloqueiam canais de sódio, como a carbamazepina e a fenitoína, promovem aumento do limiar motor, enquanto agonistas gabaérgicos, como benzodiazepínicos, não o modificam.⁽¹²⁻¹⁴⁾

2. Amplitude do potencial evocado motor (PEM) é medida pico-a-pico no PEM e é pouco influenciada por artefatos. Reflete a integridade corticoespinhal e o tamanho do *pool* de neurônios motores espinhais ativados por um dado estímulo de EMT.^(84,88) Em intensidades de estímulos próximas ao limiar motor ou discretamente acima deste, a amplitude do PEM apresenta uma elevada variabilidade entre os testes. Essa variabilidade tende a diminuir com intensidades maiores dos pulsos de EMT.⁽⁸⁹⁾

3. Período silente cortical: corresponde ao intervalo após um PEM induzido por um pulso de EMT em um músculo sob contração tônica no qual há supressão da atividade eletromiográfica⁽⁸⁷⁾ (Figura 2). O tempo de duração do período silente relaciona-se diretamente com a intensidade do estímulo. Acredita-se que o período silente decorra de fenômenos de inibição cortical possivelmente mediada por atividade de receptores GABAB.^(90,91) O período silente cortical é determinado pela excitabilidade motora do neurônio motor espinhal e por mecanismos de inibição corticais. A inibição do neurônio motor alfa espinhal contribui para os primeiros 50 a 75 milissegundos (ms) do período silente cortical.

Após isso, a maior parte da supressão deve-se a uma série de mecanismos inibitórios corticais. O retorno da atividade eletromiográfica depende da recuperação da excitabilidade motora cortical mediada por mecanismos de inibição GABAérgica (GABAB) após o pulso de EMT.^(21,90)

PEM: potencial evocado motor; PSC: período silente cortical; µV: microvolts; ms: milissegundos.

Figura 2. Período silente cortical – aquisição realizada no músculo abdutor do dedo mínimo direito após um pulso único de estimulação magnética transcraniana sobre o hemisfério esquerdo (córtex motor)

4. Inibição e facilitação intracorticais: medidas realizadas com a técnica EMT-pp na qual dois pulsos magnéticos são administrados consecutivamente, havendo um intervalo variável de ms entre eles. Na modalidade mais frequentemente empregada de EMT-pp, a intensidade do primeiro pulso situa-se abaixo do limiar motor e a do segundo, acima do mesmo. O primeiro pulso é denominado estímulo condicionante e é intenso o suficiente para ativar neurônios corticais com baixo limiar de ativação, mas não tão intenso a ponto de deflagrar impulsos neuronais descendentes que possam ser detectados. O segundo estímulo é capaz de excitar neurônios piramidais e produzir um potencial evocado motor. Efeitos intracorticais do estímulo condicionante modulam a amplitude do potencial evocado motor desencadeado pelo estímulo teste.⁽⁹²⁾ A intervalos menores que cerca de 5ms entre os dois pulsos - podendo ser maiores ou menores que 5ms, dependendo do músculo e das intensidades dos estímulos - verifica-se habitualmente uma diminuição na

amplitude do potencial evocado motor, comparada à registrada quando um único pulso é administrado. Este fenômeno é denominado inibição intracortical (Figura 3). A intervalos entre 8 e 30ms entre os dois pulsos, ocorre o fenômeno oposto, com aumento da amplitude do potencial evocado motor: é a facilitação intracortical. Acredita-se que estes fenômenos relacionem-se à atividade de diferentes circuitos inibitórios e excitatórios no córtex motor.^(16,92,93) A inibição intracortical, em particular, está relacionada à atividade de interneurônios gabaérgicos mediada por receptores GABAA.⁽⁹⁴⁾ A facilitação intracortical é presumivelmente influenciada por atividade de sinapses glutamatérgicas e gabaérgicas.^(94,95) Sugere-se que as populações de neurônios gabaérgicos envolvidas na inibição intracortical e na facilitação intracortical sejam distintas, uma vez que efeitos diferentes podem ser obtidos sobre a inibição e sobre a facilitação, após administração de agonistas ou antagonistas gabaérgicos específicos.^(95–97) Diversas condições fisiológicas, como sonolência,⁽⁹⁸⁾ fase do ciclo menstrual em mulheres em idade fértil^(99,100) ou patológicas podem levar a alterações destes parâmetros e devem ser levadas em consideração nos estudos de excitabilidade cortical.

Outro parâmetro que pode ser avaliado com técnica de pulsos pareados de EMT é a inibição intracortical de intervalo longo. Nesse paradigma, dois pulsos sequenciais são aplicados em intensidades acima do limiar motor em repouso com intervalos inter-pulsos variando entre 50 a 150ms. Acredita-se ocorrer o envolvimento de receptores GABAB, diferentemente do que ocorre na inibição intracortical por intervalo curto.^(101,102)

A. Potencial evocado motor após pulso único de estimulação magnética transcraniana (EMT). B. Pulso pareado de EMT com 2ms de intervalo inter-pulsos mostra uma redução de amplitude do potencial evocado motor. Aquisição no músculo abdutor do dedo mínimo direito. PEM: potencial evocado motor; μV : microvolts; ms: milissegundos.

Figura 3. Inibição intracortical por intervalo curto

Além destas medidas dependentes exclusivamente da EMT, outras modalidades de avaliação neurofisiológicas são descritas. Estímulos periféricos podem influenciar a excitabilidade motora cortical por meio de conexões sensoriomotoras. Esse tipo de modulação é chamada inibição aferente, podendo ser de curta ou longa latência.⁽¹⁰³⁾ Em ambos os casos, aplica-se um estímulo periférico e após um intervalo variável, um pulso de EMT. É esperada uma redução na amplitude do potencial evocado motor obtido. Usualmente, os paradigmas de inibição aferente de curta e de longa latência são realizados com intervalos entre os estímulos em 25 ou 200ms, respectivamente.

A inibição aferente de latência longa é provavelmente dependente de conexões corticocorticais envolvendo o córtex motor e as áreas somatossensoriais bilateralmente. Mecanismos e neurotransmissores envolvidos na inibição aferente de latência longa ainda não são claros, já na inibição aferente por intervalo curto acredita-se que mecanismos inibitórios do córtex motor mediados por neurotransmissão muscarínica colinérgica e GABAA modulem sua resposta.⁽¹⁰⁴⁾

Alterações semelhantes à potenciação de longo prazo podem ser induzidas por estimulação acoplada associada, *paired-associative stimulation* (PAS). A PAS envolve um acoplamento temporal entre um estímulo periférico no nervo e um pulso magnético no córtex motor contralateral, com intervalo de 25ms. A PAS é habitualmente aplicada em sequências de estímulos com uma frequência baixa (0,05 Hertz) por 30 minutos. A PAS pode induzir um aumento na amplitude do potencial evocado motor, com duração do efeito por até 30 a 60 minutos.⁽¹⁰⁵⁾

2.2.3 Modulação da excitabilidade à estimulação magnética transcraniana

Não apenas doenças podem modular a resposta motora à EMT. Intervenções como exercícios ou substâncias podem influenciar a excitabilidade cortical.

2.2.3.1 Exercício

Em indivíduos saudáveis, as amplitudes dos potenciais evocados motores aumentam imediatamente após a realização de um breve período de uma

tarefa motora repetitiva (fenômeno de “facilitação pós-exercício”) e após um período de repouso de 15 minutos voltam a aumentar (fenômeno de “facilitação tardia”).⁽¹⁰⁶⁾ Acredita-se que a facilitação pós-exercício seja determinada por um aumento transitório da excitabilidade do córtex motor, enquanto que a facilitação tardia reflita uma reorganização sináptica intracortical devido à realização de atividade redundante.⁽¹⁰⁷⁾

2.2.3.2 Substâncias

Agonistas dopaminérgicos em indivíduos saudáveis aumentam a inibição motora cortical, refletida pela redução dos valores da inibição intracortical por intervalo curto. Ao contrário disso, agentes anti-dopaminérgicos aumentam a facilitação e diminuem a inibição intracortical.⁽¹⁰⁸⁾

Pregabalina e gabapentina enacarbil, drogas seletivas da subunidade $\alpha 2\text{-}\delta$ do receptor de cálcio dependente de voltagem, reduzem a liberação de neurotransmissores excitatórios como glutamato, noradrenalina e substância P.^(109–111) Além disso, sugere-se que a gabapentina aumente a atividade de receptores GABAA e GABAB, enquanto a pregabalina seja mais específica para modulação de receptores GABAB.⁽¹¹²⁾ Estudos com EMT mostraram resultados distintos para essas medicações. A gabapentina aumenta a inibição intracortical por intervalo curto e reduz a facilitação intracortical,⁽¹¹³⁾ enquanto a pregabalina reduz a inibição intracortical medida pela inibição intracortical por intervalo curto e aumenta a inibição intracortical por período longo, assim como a duração do período silente cortical. Esses resultados são, provavelmente, relacionados a diferentes mecanismos de ação dessas drogas sobre sistemas de neurotransmissão.⁽¹¹²⁾

2.2.4 Parâmetros de excitabilidade cortical por estimulação magnética transcraniana em síndrome das pernas inquietas

A EMT tem sido empregada na investigação de mecanismos fisiológicos subjacentes à SPI desde 1999.⁽¹¹⁴⁾ Apesar do número restrito (15 estudos), em sua maioria os estudos mostram que o trato corticoespinal está intacto e que a excitabilidade motora cortical está alterada, com provável diminuição da atividade

gabaérgica do córtex motor. Uma revisão abrangente sobre o tema foi publicada por nosso grupo de pesquisa.⁽⁸⁾

De modo didático, opta-se por agrupar os estudos de acordo com seus objetivos.

2.2.4.1 Excitabilidade motora avaliada por estimulação magnética transcraniana

Todos os estudos envolveram medidas de excitabilidade cortical em pacientes previamente diagnosticados com SPI em comparação a controles. O uso de agentes dopaminérgicos em indivíduos virgens de tratamento ou com interrupção de uso de medicação antes da EMT variou entre os trabalhos (Tabelas 1-4). Não foram identificados estudos sobre a influência da pregabalina ou gabapentina nos parâmetros de EMT em portadores de SPI.

2.2.4.2 Estudos de avaliação sem administração de intervenções

2.2.4.2.1 Medidas por estimulação magnética transcraniana de pulso único

O parâmetro limiar motor em repouso foi testado em todos os estudos e apresentou-se normal em pacientes cronicamente tratados, assim como naqueles sem tratamento prévio para a doença. O limiar motor em atividade mostrou uma variação circadiana em pacientes virgens de tratamento. Os valores de limiar motor em atividade foram menores em portadores de SPI comparados a controles, no período noturno (Tabelas 1–4).⁽²⁴⁾

O período silente cortical foi por diversas vezes avaliado com metodologias diferentes entre si. Uma parte dos estudos^(24,114–116) não encontrou diferenças consistentes entre portadores de SPI e controles. Por outro lado, outros estudos encontraram uma redução na duração do período silente cortical em pacientes não tratados⁽¹¹⁷⁾ (Tabela 1) e em tratamento crônico de SPI (Tabela 3).^(118–120) Além disso, medidas realizadas através de eletrodos de agulha de eletromiografia mostraram fragmentação do período silente cortical, descrita como surtos de atividade muscular

em permeio ao período silente.⁽¹²¹⁾ O significado neurofisiológico desse resultado não é claro, entretanto acredita-se que uma maior excitabilidade cortical o determine.⁽¹²¹⁾

A relação entre sintomas clínicos e alterações na excitabilidade medida pelo período silente cortical ainda não está clara.^(114,116,119,122) Em pacientes portadores de SPI previamente tratados ou nos virgens de tratamento, não foram encontradas diferenças ou correlações entre essa medida e a gravidade dos sintomas medida por diferentes instrumentos como a escala de gravidade do IRLSSG,⁽¹²²⁾ o índice de movimentos periódicos dos membros,⁽¹¹⁹⁾ a escala de O’Keeffe et al.,^(118,123) a escala de impressão clínica global,⁽¹²⁰⁾ a presença de sintomas antes da realização da EMT⁽¹¹⁴⁾ ou o teste de imobilização sugerida.⁽¹¹⁶⁾

2.2.4.2.2 Medidas por estimulação magnética transcraniana de pulso-pareado

A redução na inibição intracortical, medida pela inibição intracortical por intervalo curto, é o parâmetro mais consistente nos estudos de EMT em portadores de SPI, independentemente do histórico de tratamento (Tabelas 1, 2 e 4).^(106,114–117,124,125) Apesar do uso de metodologias diversas e técnicas heterogêneas, a redução da inibição intracortical foi encontrada frequentemente em pacientes tratados e não tratados (Tabela 1).

A facilitação intracortical também tem sido relatada como anormal, tanto em pacientes virgens de tratamento, quanto naqueles já tratados (Tabela 2 e 3). O aumento da facilitação intracortical parece ser mais evidente no membro (perna ou braço) mais sintomático.⁽¹¹⁶⁾ Junto a isso, diferenças entre membros superiores e inferiores também foram relatadas com um aumento mais evidente nas mãos.⁽¹¹⁴⁾ Os relatos de alterações na facilitação intracortical em portadores de SPI têm sido menos constantes do que os de inibição intracortical.^(104,115)

A relação entre inibição intracortical, facilitação intracortical e a gravidade dos sintomas também não está clara. Em estudos com pacientes previamente tratados e portadores de gravidades diferentes de SPI, usando o critério da presença dos sintomas na tarde do experimento com EMT, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes na inibição intracortical e na facilitação intracortical.⁽¹¹⁴⁾ Diferentemente, o aumento de movimentos no teste de imobilização

sugerida demonstrou um aumento na facilitação intracortical e uma redução na inibição intracortical em pacientes virgens de tratamento.⁽¹¹⁶⁾

2.2.4.3 Estudos com efeitos de intervenções

2.2.4.3.1 Exercícios

Em portadores de SPI (sem histórico conhecido de uso de medicação ou virgens de tratamento) em comparação com controles, as amplitudes dos potenciais evocados motores não foram significativamente diferentes após séries de exercícios repetidos em comparação com o estado de repouso prévio (Tabela 1). Esse fenômeno, descrito como facilitação pós-exercício, estaria ausente em portadores de SPI e indicaria um prejuízo na plasticidade motora cortical.^(117,125)

2.2.4.3.2 Efeitos de medicações

Cabergolina, pramipexole, ropinirole e levodopa influenciam a excitabilidade e a plasticidade corticais. Essas medicações foram testadas em portadores de SPI em sete estudos.^(104,106,115,119,120,122,124)

Alguns incluíram apenas pacientes virgens de tratamento (Tabela 2). Outros, também indivíduos já em uso de medicações para a doença (Tabela 3). Nesses estudos, a medicação deveria ser suspensa antes da EMT com um intervalo entre 2 dias e 3 meses.

Agentes dopaminérgicos não influenciaram os parâmetros de limiar motor em repouso ou atividade em portadores de SPI ou em controles, independentemente do uso de prévio de medicação.

Houve uma redução na duração do período silente cortical em pacientes sem tratamento⁽¹¹⁷⁾ e em pacientes previamente tratados com levodopa, pergolida, levodopa+pergolide ou zolpidem, quando a EMT foi realizada pelo menos 2 dias após a interrupção dessas medicações.^(119,120,122) Essa redução foi corrigida por um dose única de levodopa/benserazida (200/50mg) fornecida 90 minutos antes da EMT.⁽¹²⁰⁾ Por outro lado, a duração do período silente cortical não foi incrementada com o tratamento com pramipexole em pacientes virgens de tratamento.⁽¹⁰⁶⁾

Além disso, o uso de agentes dopaminérgicos (cabergolina, ropinirole ou levodopa) por 30 dias aumentou a duração do período silente cortical no músculo tibial anterior, mas não houve mudança quando o registro foi feito no músculo abdutor curto do polegar em portadores de SPI previamente tratados.⁽¹¹⁹⁾ O efeito da cabergolina em pacientes previamente tratados variou durante o tempo de tratamento. Após suspender a levodopa por 5 dias ou agonistas dopaminérgicos por 3 meses, a duração basal do período silente cortical foi reduzida em pacientes em comparação com controles. Após 14 dias de tratamento com cabergolina, registrou-se um aumento na duração do período silente cortical. Entretanto, o aumento não foi sustentado e não esteve mais presente após 90 dias de tratamento.⁽¹²²⁾

A redução da inibição intracortical em portadores de SPI virgens de tratamento pode ser corrigida com o uso de cabergolina por 4 semanas.⁽¹¹⁵⁾ O mesmo efeito também foi observado com uso de pramipexole por 4 semanas.^(104,106) Vários estudos^(104,106,115) mostraram modulação da inibição intracortical por agentes dopaminérgicos. Entretanto, o mesmo não é verdade para a medida de facilitação intracortical que não se alterou após a terapia com agentes dopaminérgicos.^(104,115)

A facilitação pós-exercício imediata e a facilitação tardia (15 minutos após repouso de um exercício) mostraram-se ausentes em portadores de SPI primária antes de uso de medicações. Contudo, após um período de 4 semanas em uso de pramipexole, a facilitação tardia, mas não a facilitação pós-exercício imediata, voltou a surgir após uma tarefa bimanual.⁽¹⁰⁶⁾

Protocolos de EMT aplicando a técnica de PAS mostraram que as amplitudes dos potenciais evocados motores não aumentaram em portadores de SPI sem tratamento, como ocorrem em indivíduos controles. O uso de agentes dopaminérgicos por 4 semanas restaura o efeito da PAS em portadores de SPI.⁽¹²⁴⁾

A inibição aferente de curta latência mostrou-se reduzida em portadores de SPI não tratados em comparação a controles. Após o tratamento com agentes dopaminérgicos por 4 semanas, houve um aumento significativo entre o estado pré e o pós-tratamento. Já a inibição aferente de longa latência não foi alterada.⁽¹⁰⁴⁾

Tabela 1. Estudos que avaliaram a excitabilidade motora cortical em portadores de síndrome das pernas inquietas virgens de tratamento ou sem mencionar o estado de uso de medicações, nenhuma intervenção foi realizada

Autor	Ano	Uso de medicação	Tamanho amostral SPI/ Controles/ Outros (Sexo)	Média de idade dos indivíduos $\pm$ DP (SPI/Controles) (anos)	Músculo estudado/ Hemisfério testado/ Sono noite anterior	Horário	Estimulador /Bobina/ Tipo de pulso	Medidas de excitabilidade	Resultado principal
Quatralle et al. ⁽¹¹⁶⁾	2003	Virgem de tratamento	15 (NR) / 12 (NR)	60,5 $\pm$ 25,4; NR / 59,1 $\pm$ 19,1; NR	ADM, EDB, TA / Ambos / Ausência de privação de sono no diário de sono	9:00	Maglite r25 Twin Top / Bobina Circular (TA, EDB), Em 8 (ADM) / Bifásico	LMr, LMa, PSC, IIC, FIC	↓IIC ↑FIC
Scalise et al. ⁽¹²⁵⁾	2004	Não menciona uso prévio de medicações	6 (NR) / 2 (NR)	NR / NR	FDI / Direita / Noite inteira de sono espontâneo	Fim da manhã	Maglite r25 Twin Top / Em 8 / Bifásico	LMr, IIC, FacPex; FacTardia	↓IIC
Scalise et al. ⁽¹¹⁷⁾	2006	Virgem de tratamento	11 (6F) / 11 (6F)	59,6 $\pm$ 4,1; NR/ 49,4 $\pm$ 3,1; NR	FDI / Direita / Noite inteira de sono espontâneo	Fim da manhã	Maglite r25 Twin Top / Bobina Circular / Bifásico	LMr, PSC, IIC, FacPex; FacTardia	↓IIC ↓PSC ↓FacPex ↓FacTardia
Gündüz et al. ⁽¹²⁶⁾	2012	Virgem de tratamento	11 (5F) / 8 (4F)	50,2 $\pm$ 13,3; NR/ 48,1 $\pm$ 16,9; NR	FDI / NR / NR	Tarde e 22:00 – 23:00	Magstim 200 / Bobina Circular / Monofásico	LMr, LMa, PSC	↓LMa
Lanza et al. ⁽¹²⁷⁾	2015	Virgem de tratamento	12 (8F) / 14 (9F) + 14 SAOS (6F)	61,7 $\pm$ 11,4; NR/ 64,4 $\pm$ 5,3; NR / 57,9 $\pm$ 6,0; NR	FDI / Dominante / NR	9:00 – 10:00	Magstim 200 / Em 8 / Monofásico	LMr, PSC, IIC, FIC	↓IIC em SPI comparados com controles e SAOS; ↓PSC em SPI comparado a SAOS

ADM: músculo abdutor do dedo mínimo; DP: desvio-padrão; EDB: músculo extensor curto dos dedos; F: feminino; FacPex: facilitação pós-exercício; FacTardia: facilitação tardia; FDI: músculo primeiro interósseo dorsal; FIC: facilitação intracortical; IIC: inibição intracortical; LMa: limiar motor em atividade; LMr: limiar motor em repouso; PSC: período silente cortical; NR: informação não relatada; SAOS: síndrome da apneia obstrutiva do sono; SPI: síndrome das pernas inquietas; TA: músculo tibial anterior.

Tabela 2. Estudos que avaliaram a excitabilidade cortical antes e após intervenções medicamentosas específicas no tratamento da síndrome das pernas inquietas, em indivíduos virgens de tratamento

Autor	Ano	Medicação testada	Tamanho amostral SPI/ Controles (sexo)	Média de idade dos indivíduos $\pm$ DP (SPI/Controles) (anos)	Músculo estudado/ Hemisfério testado/ Sono noite anterior	Horário	Estimulador/ Bobina/Tipo de pulso	Medidas de excitabilidade	Resultado principal
Nardone et al. ⁽¹¹⁵⁾	2006	Cabergolina 2,0mg (dose máxima) por 4 semanas	14 (6F) / 15 (6F)	58,5 $\pm$ 8,8; NR / 56,2 $\pm$ 6,0; NR	FDI / Dominante / NR	8:00 / 20:00	Magstim 200 / Em 8 / Monofásico	LMr, LMa, PSC, IIC, FIC	↓IIC; revertida pela cabergolina
Rizzo et al. ⁽¹²⁴⁾	2009	Pramipexol 0,18-0,25mg/dia (n=5) ou Cabergolina 1,0mg /dia (n=3) por 4 semanas	12 (6F) / 10 (4F) Apenas 8 pacientes foram avaliados após uso de DA	53,4 $\pm$ 12,5; NR / 51,8 $\pm$ 5,6; NR	APB / Esquerdo / NR	15:00	Magstim 200 / Em 8 / Monofásico	LMr, PAS	↓PAS, recuperada após o tratamento
Rizzo et al. ⁽¹⁰⁴⁾	2010	Pramipexol (dose média 0,25mg/dia; n=5) ou Cabergolina (dose média 0,5mg /dia; n=3) por 4 semanas	10 (6F) / 10 (5F) Apenas 8 pacientes foram avaliados após uso de DA	50 $\pm$ 13; NR/ 52 $\pm$ 6; NR	APB / Esquerdo / NR	15:00	Magstim 200 / Em 8 / Monofásico	LMr, LMa, IIC, FIC, IAC, IAL	↓IIC; ↓IAC, ambas corrigidas após o tratamento
Scalise et al. ⁽¹⁰⁶⁾	2010	Pramipexol 0,25mg/dia por 4 semanas	12 (8F) / 12 (6F)	52,7 $\pm$ 10,9; NR / 49,4 $\pm$ 3,1; NR	FDI / não-dominante / Noite inteira de sono espontâneo	Manhã	MagLite r25 Twin Top / Bobina circular / Bifásico	LMr, PSC, IIC, FacPex; FacTardia	↓IIC; ↓FacTardia, ambos corrigidas após o tratamento; ↓FacPex, não restaurada após o tratamento

APB: músculo abdutor curto do polegar; DA: agonista dopaminérgico; DP: desvio-padrão; F: feminino; FacPex: facilitação pós-exercício; FacTardia: facilitação tardia; FDI: músculo primeiro interósseo dorsal; IAC: inibição aferente por latência curta; IAL: inibição aferente de latência longa; FIC: facilitação intracortical; IIC: inibição intracortical; LMa: limiar motor em atividade; LMr: limiar motor em repouso; NR: informação não relatada; PAS: estimulação acoplada associada (paired-associative stimulation); PSC: período silente cortical; SPI: síndrome das pernas inquietas.

Tabela 3. Estudos que avaliaram a excitabilidade motora cortical antes e após tratamentos específicos em síndrome das pernas inquietas, em indivíduos previamente tratados

Autor	Ano	Medicação testada	Medicações prévias	Protocolo de suspensão	Tamanho amostral SPI/ Controles (sexo)	Média de idade dos indivíduos $\pm$ DP, min.-máx. (SPI/ Controles) (anos)	Músculo estudado / Hemisfério testado/ Sono noite anterior	Horário	Estimulador / Bobina / Tipo de pulso	Medidas de excitabilidade	Resultado principal
Stiasny-Kolster et al. ⁽¹²⁰⁾	2003	Levodopa /benserazida 200/50mg 1,5h antes do experimento	Levodopa (12 pacientes) Pergolida (1) Levodopa+ Pergolida (1) Zolpidem (1)	Medicação suspensa 2 dias (levodopa) ou 1 semana (agonistas dopaminérgicos) antes	15 (10F) / 15 (10F)	55,4 $\pm$ 9,3; 38-72 / 55,4 $\pm$ 9,6; 38-71	ADM, TA / Direito / NR	8:00 20:00	Magstim 200 / Bobina Circular / Monofásico	LMa, PSC	↓PSC, revertido pela levodopa
Kutukcu et al. ⁽¹¹⁹⁾	2006	Levodopa (8 pacientes) Cabergolina (8p) Ropinirol (4p)	Não menciona qual medicação estava em uso	Medicação suspensa 3 semanas antes	20 (14F) / 15 (9F)	53,6 $\pm$ NR; 39-70 / 53,5 $\pm$ NR; 27-74	APB, TA / Ambos / PSG com eficiência média do sono de 74%	NR	Maglite / Bobina Circular / NR	LMr, PSC	↓PSC revertido pelo tratamento
Gorsler et al. ⁽¹²²⁾	2007	Cabergolina 2,0mg (dose máxima) por 90 dias	Não menciona qual medicação estava em uso	Medicação suspensa 5 dias (levodopa) ou 3 meses (agonistas dopaminérgicos) antes	10 (NR) / 7 (NR)	NR; 45-67 / NR; 38-64	TA / Esquerdo / NR	8:00 20:00	Magstim 200 / Bobina Circular / Monofásico	LMr, PSC	↓PSC revertido transitoriamente pelo tratamento

ADM: músculo abdutor do dedo mínimo, AH: músculo abdutor do hálux; APB: músculo abdutor curto do polegar; DP: desvio-padrão; F: feminino; LMa: limiar motor em atividade; LMr: limiar motor em repouso; NR: informação não relatada; PSC: período silente cortical; PSG: polissonografia; SPI: síndrome das pernas inquietas; TA: músculo tibial anterior.

Tabela 4. Estudos que avaliaram a excitabilidade cortical durante tratamento medicamentoso em portadores de síndrome das pernas inquietas (estado de tratamento prévio indefinido)

Autor	Ano	Estado prévio de tratamento	Tamanho amostral SPI/ Controles (sexo)	Média de idade dos indivíduos $\pm$ DP; min.-máx. (SPI/Controles) (anos)	Músculo estudado/ Hemisfério testado/ Sono noite anterior	Horário	Estimulador/ Bobina/Tipo de pulso	Medidas de excitabilidade	Resultado principal
Tergau et al. ⁽¹¹⁴⁾	1999	Medicação “habitual” de SPI suspensa 24 horas antes	18 (13F) / 17 (12F)	63,1 $\pm$ 10,8; 44-77 / 59,7 $\pm$ 12,8; 39-82	ADM, AH / Esquerdo / NR	Final da tarde	NR / Em 8 / NR	LMr, LMa, PSC, IIC, FIC	$\downarrow$ IIC $\uparrow$ FIC
Entezari-Taher et al. ⁽¹¹⁸⁾	1999	Medicação “habitual” de SPI suspensa 2 dias antes	10 (NR) / 10 (NR)	52 $\pm$ 9; NR / 49 $\pm$ 12; NR	APB, TA / NR / NR	NR	Cadwell MES-10 / Bobina Circular / Bifásico	LMr, PSC	$\downarrow$ PSC
Ahlgrén-Rimpiläinen et al. ⁽¹²¹⁾	2012	Medicação “habitual” de SPI suspensa pelo menos 7 dias antes	6 (3F) / 6 (3F)	60,3 $\pm$ 10,3; NR / 41,2 $\pm$ 5,9; NR	ADM, TA / Ambos / NR	Diurno	Cadwell MES-10 / Bobina Circular / Bifásico	PSC	$\downarrow$ PSC

ADM: músculo abdutor do dedo mínimo, AH: músculo abdutor do hálux, APB: músculo abdutor curto do polegar; DP: desvio-padrão; F: feminino; FIC: facilitação intracortical; IIC: inibição intracortical; LMa: limiar motor em atividade; LMr: limiar motor em repouso; PSC: período silente cortical; NR: informação não relatada; SPI: síndrome das pernas inquietas; TA: músculo tibial anterior.

2.2.5 Relevância da estimulação magnética transcraniana na compreensão dos mecanismos subjacentes à síndrome das pernas inquietas

Em suma, a EMT é uma excelente ferramenta para estudar a contribuição da disfunção cortical na sintomatologia da SPI. A literatura atual reforça a possibilidade de um envolvimento cortical na fisiopatologia da SPI. A inibição intracortical é considerada um marcador da atividade de receptores GABAA inibitórios no córtex e está tipicamente reduzida na SPI.⁽⁹²⁾ Alterações em outros parâmetros de excitabilidade cortical são controvertidas.

Os parâmetros de limiar motor em repouso, limiar motor em atividade e amplitudes dos potenciais evocados motores estão normais em portadores de SPI.^(114–116,118,125,127) Esse resultado é esperado, visto que não são relatadas anormalidades estruturais objetivas em portadores de SPI primária.⁽¹²⁸⁾ Usualmente, limiar motor em repouso, limiar motor em atividade e amplitudes de potenciais evocados motores não são influenciadas por condições que decorrem de disfunção em sistemas neurotransmissores e sim por anormalidades na excitabilidade de canais iônicos (por exemplo na Doença de Parkinson, limiar motor em repouso e amplitude dos potenciais evocados motores estão habitualmente normais), como por exemplo na presença de lesões estruturais do trato corticoespinhal.⁽¹²⁹⁾ Devido à normalidade desses marcadores de integridade do trato corticoespinhal em SPI, acredita-se que há uma preservação desta via na SPI.

A principal hipótese fisiopatológica da SPI é a disfunção em sistemas de neurotransmissores,^(70,77,130) em particular o sistema dopaminérgico. A redução na inibição intracortical^(104,106,114–117,125) talvez esteja relacionada a uma desregulação dopaminérgica, podendo dever-se tanto a mecanismos diretos quanto indiretos de modulação gabaérgica através do sistema dopaminérgico. Favorecendo a hipótese indireta, tem-se o fato da perda da inibição intracortical ser revertida pelo uso de agonistas dopaminérgicos (cabergolina e pramipexole).^(104,106) Essas medicações aumentam a inibição intracortical, enquanto que os antagonistas dopaminérgicos reduzem a inibição intracortical em indivíduos saudáveis.⁽¹⁰⁸⁾ É possível admitir uma ação em receptores dopaminérgicos em nível estriatal, porém um efeito direto através de inervação dopaminérgica ao córtex também é possível.⁽¹³¹⁾ Projeções neuronais para o córtex contendo dopamina e tirosina hidroxilase estabelecem contato com

interneurônios GABA e com o corpo neuronal, dendritos e espinhas dendríticas de células piramidais no córtex pré-frontal, cíngulo e córtex motor de primatas. Essas aferências dopaminérgicas são provavelmente originadas na área ventral tegmentar.⁽¹³²⁾ Em humanos, existe uma formação preferencial de sinapses dopaminérgicas em espinhas dendríticas distais dos neurônios piramidais do neocórtex. Esse arranjo permitiria uma ação dopaminérgica direta na excitabilidade de projeções neuronais corticais.^(133,134)

A dopamina também está envolvida na plasticidade sináptica e em processos de aprendizado motor.⁽¹³⁵⁾ Estudos com EMT sugerem uma anormalidade na plasticidade motora cortical.^(106,117,124) A dopamina pode regular mecanismos de potenciação de longo prazo, de sinapses glutamatérgicas no estriado e no córtex pré-frontal em modelos animais.⁽¹³⁶⁾ Em portadores de SPI, uma redução nas medidas de potencial evocado motor induzidas no paradigma de PAS pode ser corrigida pelo uso de agonistas dopaminérgicos por 4 semanas.⁽¹²⁴⁾ A ausência de facilitação imediata e tardia pós-exercício em portadores de SPI corrobora a ideia de uma disfunção na plasticidade neuronal motora. Essa disfunção pode ser revertida pelo uso de agentes dopaminérgicos.^(106,117)

Além de mecanismos indiretos gabaérgicos poderem contribuir para a fisiopatologia da SPI, estudos testando agonistas GABA levantam a possibilidade de um papel direto desse sistema na doença. Por exemplo, lorazepam e diazepam, duas medicações gabaérgicas, causam um aumento na inibição intracortical⁽¹³⁷⁻¹³⁹⁾ e em portadores de SPI essas medicações podem reduzir a gravidade dos sintomas.⁽⁴⁶⁾ Por isso, benzodiazepínicos são sugeridos como terapia associada ou alternativa em pacientes selecionados.^(140,141) Pregabalina e gabapentina também apresentam padrões diferentes de alterações na excitabilidade motora cortical. Essas medicações são utilizadas rotineiramente no tratamento de SPI com resultados satisfatórios.⁽¹⁴²⁾ A modulação de receptores GABA pela pregabalina ou gabapentina é o mecanismo mais provável de ação dessas substâncias na SPI. Infelizmente, ainda não existem estudos de excitabilidade motora cortical com EMT envolvendo o uso dessas medicações em portadores dessa condição.

Ao contrário da inibição intracortical, as alterações na facilitação intracortical não têm sido reprodutíveis em portadores de SPI. Acredita-se que grupos separados de neurônios sejam responsáveis pela mediação de inibição intracortical e facilitação intracortical.^(94,102) Agonistas dopaminérgicos, como a bromocriptina, não

alteram a facilitação intracortical em indivíduos saudáveis.⁽¹⁰⁸⁾ Considerando que sistemas dopaminérgicos, mas não glutamatérgicos, parecem estar envolvidos na gênese da SPI, não é inesperado o resultado de normalidade da facilitação intracortical.

Existe ainda controvérsias quanto as alterações do período silente cortical na SPI. Apesar de uma parte dos estudos terem descrito uma redução da duração do período silente cortical em portadores de SPI, alguns não encontraram essa diferença.^(117–122) Variabilidade de protocolos experimentais (músculo-alvo, intensidade de estímulo) pode explicar em parte os resultados inconsistentes. Por exemplo, Entezari-Taher et al. registraram o período silente cortical nos membros inferiores mediante um estímulo com intensidade elevada (50% acima do limiar motor em repouso) e encontrou uma redução no período silente cortical em portadores de SPI em relação a controles.⁽¹¹⁸⁾ Por outro lado, Quatrone et al. aplicando estímulos menores (10, 20, 30, 40% acima do limiar motor em repouso) não encontraram diferenças na duração do período silente cortical avaliado em pernas e braços em portadores de SPI em comparação com controles.⁽¹¹⁶⁾

Entretanto, dois outros estudos testando medicações, um deles usando intensidade de 120% limiar motor em repouso⁽¹²²⁾ e outro usando intensidades progressivas de estímulo,⁽¹¹⁹⁾ ambos com registro no músculo tibial anterior, encontraram uma redução significativa do período silente cortical nos portadores de SPI em comparação a controles. Essas diferenças foram corrigidas com o uso de agonistas dopaminérgicos.

Pode existir um perfil particular de redução de período silente cortical nos portadores de SPI. Ainda não é determinado se a esta redução decorre de um comprometimento maior da porção inicial (espinhal) ou da porção final (cortical) do período silente cortical.^(20,21,90) O uso de eletrodos de agulha para medir o período silente cortical pode auxiliar na análise destes componentes. O aumento na fragmentação do período silente cortical foi interpretado como uma evidência de aumento da excitabilidade cortical.⁽¹²¹⁾ O registro de múltiplos fragmentos de atividade muscular em paralelo ao período silente em portadores de SPI pode refletir uma disfunção em sistemas de neurotransmissão (dopaminérgica e/ou gabaérgica).

A SPI apresenta uma variabilidade circadiana de sintomas. Apesar disso, a maior parte dos estudos com EMT em SPI não encontraram diferenças entre parâmetros medidos no começo ou ao final do dia. Em um estudo desenhado

especificamente para essa questão, foi encontrada uma redução do limiar motor em atividade nos portadores de SPI em relação a controles. Diferenças em outros parâmetros não obtiveram significância estatística.⁽²⁴⁾ Além disso, outros trabalhos não conseguiram mostrar um relação de alterações de excitabilidade motora cortical medida pela inibição intracortical⁽¹¹⁵⁾ e pelo período silente cortical⁽¹²⁰⁾ com o ciclo circadiano. Estes dados sugerem que independentemente da piora dos sintomas de SPI à noite, o aumento na excitabilidade cortical, especialmente a avaliada pela inibição intracortical, pode estar presente durante todo o dia.

Por fim, com o intuito de avaliar de modo mais amplo o efeito de agentes dopaminérgicos na excitabilidade cortical por EMT, é importante considerar a influência de cada substância específica, posologia e duração de uso nesses resultados. Por exemplo, a duração do período silente cortical parece ser influenciada por uso recente de medicação.^(118–122) Apenas um estudo mostrou diferenças no período silente cortical entre pacientes portadores de SPI virgens de tratamento.⁽¹¹⁷⁾ Estudos avaliando uso prolongado de agentes dopaminérgicos (cabergolina ou pramipexole por 4 semanas) mostraram que as substâncias foram capazes de reverter a redução na inibição intracortical encontrada nas medidas de EMT anteriores ao início do tratamento,^(104,106,115) assim como restaurar a plasticidade motora cortical.^(104,106,124)

2.2.6 Limitações da estimulação magnética transcraniana em síndrome das pernas inquietas

Falta de homogeneidade em técnicas de EMT e na seleção de pacientes, pelos diferentes grupos, podem levar a dificuldades e erros na interpretação dos resultados obtidos em portadores de SPI.

Em primeiro lugar, não há uniformidade na escolha do músculo de registro. Pelo menos seis músculos diferentes, pertencentes aos membros superiores ou inferiores, foram utilizados entre os protocolos (Tabelas 1-4). Os sintomas de SPI predominam em membros inferiores. Frequentemente, autores não especificam que topografia corporal é a mais afetada, se os sintomas predominam em membros inferiores e se há envolvimento de outras partes do corpo. Em segundo lugar, os tipos de bobinas utilizadas, parâmetros específicos dos paradigmas de EMT, lateralidade e seleção de hemisfério também são variáveis entre os estudos. Terceiro ponto, estudos

em SPI que incluíram mulheres em idade fértil não relataram o período do ciclo menstrual no qual o experimento foi realizado. É sabido que a inibição intracortical aumenta na fase lútea e isto decorre de uma modulação GABA induzida pelos altos níveis de progesterona.⁽¹⁰⁰⁾

Além disso, pacientes portadores de SPI podem ter dificuldades de permanecer sentados e relaxados durante os experimentos com EMT. Sensação de desconforto, urgência em mover os membros ou mesmo sonolência podem ocorrer. A relevância destes fatores nos parâmetros testados de EMT em portadores de SPI é incerta, principalmente por não serem relatadas medidas objetivas desses sintomas nos estudos.

Adicionalmente, seria importante ter informações acerca da noite de sono anterior ao exame de EMT, que foi descrita em apenas alguns estudos,^(106,116,117,125) e da sonolência excessiva diurna nos voluntários, que ainda não foi abordada em estudos prévios na área. Além disso, a SPI pode estar associada a morbidades psiquiátricas diversas tais como depressão, ansiedade e transtornos psicóticos.^(143,144) Foram descritas alterações na excitabilidade motora cortical em estudos de transtorno obsessivo compulsivo, depressão maior e esquizofrenia.^(145,146) Até o momento, detalhes acerca de morbidades psiquiátricas não foram abordados nos estudos envolvendo EMT em portadores de SPI.

A gravidade da doença é outro ponto importante a ser considerado. Poucos estudos descreveram a gravidade objetivamente e, além disso, usaram métodos diferentes.^(114,116,118–120,122) A relação entre a excitabilidade motora cortical testada por EMT e a intensidade dos sintomas de SPI ainda precisa ser explorada, e este é um dos objetivos deste estudo. Finalmente, o poder estatístico foi limitado em vários estudos de EMT em SPI. A maior amostra estudada até o momento foi composta por 20 portadores de SPI e 15 controles.

2.2.7 Perspectivas de estudos de estimulação magnética transcraniana em síndrome das pernas inquietas

O aumento da excitabilidade cortical refletido na redução da inibição intracortical é demonstrado de forma recorrente nos portadores de SPI. Evidências preliminares sugerem uma relação inversa entre a inibição intracortical e a gravidade

dos sintomas de SPI. Entretanto, estudos com amostras maiores são escassos e as validades externas dos resultados não podem ser definidas de modo inequívoco. Essa área de estudo pode se beneficiar de amostras maiores e mais homogêneas, de menor variabilidade metodológica entre os estudos, da descrição detalhada de protocolos de EMT e de características dos indivíduos (lateralidade, gravidade de SPI, horário dos experimentos, relação com ciclo menstrual em mulheres em idade fértil, uso de medicações e qualidade do sono). Efeitos da pregabalina e gabapentina ainda não foram estudados por EMT em portadores de SPI. Protocolos que incluíssem avaliação de efeitos de agentes dopaminérgicos na inibição intracortical sugerem que a EMT possa ser um teste útil e alguns parâmetros possam vir a ser biomarcadores de resposta ao tratamento medicamentoso em SPI. Ainda assim, vias, mecanismos e neurotransmissores envolvidos na fisiopatologia da SPI são apenas parcialmente conhecidos. A EMT pode auxiliar a montar esse quebra-cabeças.⁽¹⁰⁾

2.3 Estudos de morfometria cerebral por ressonância magnética

2.3.1 Relevância de estudos morfométricos em geral

O envolvimento cerebral é conhecido em várias condições neurológicas e não neurológicas. Técnicas de análise estrutural de cérebros saudáveis e portadores de doenças neurológicas têm sido utilizadas, há tempos, para correlação anatomopatológica e melhor entendimento da fisiopatologia de doenças.^(25–27)

Com o advento de técnicas modernas de neuroimagem, em especial a RM, o estudo de doenças envolvendo o sistema nervoso central ganhou um grande impulso. A análise estrutural por RM pode ser feita manualmente, com a definição de regiões de interesse, porém esta técnica dispende muito tempo e é susceptível à variabilidade inter e intra-examinador na definição dos limites das estruturas estudadas.^(28,147) Por isso, pesquisadores desenvolveram métodos de análise automatizada das imagens de RM do crânio com intuito de dar celeridade ao processo e confiabilidade dos resultados.^(27,29)

Dentre as técnicas automatizadas destacam-se: a morfometria baseada em voxels e a análise baseada em superfície.

2.3.2 Morfometria baseada em voxels

Trata-se de uma técnica desenvolvida na década de 1990⁽²⁷⁾ e amplamente utilizada no meio científico. Na RM, cada imagem digital é uma matriz numérica. Cada ponto recebe o nome de voxel, que é uma unidade de volume e tem em si um valor numérico associado representando algumas propriedades de medidas ou variáveis independentes de um objeto ou fenômeno real.⁽¹⁴⁸⁾

O processamento da imagem é realizado por meio de *softwares* especializados, dentre eles o *Statistical Parametric Mapping* (SPM)⁽²⁸⁾ e o FSL-VBM.⁽¹⁴⁹⁾ Estes programas realizam uma série de correções, transformações e deformações nas imagens fonte e alinham-nas em um espaço anatômico padronizado. A série de processamentos dos *softwares* citados seguem passos técnicos que fogem do escopo desta revisão.

Em resumo, a alocação de diversas imagens em um espaço comum torna possível a comparação de áreas homólogas cerebrais entre grupos distintos ou em um mesmo grupo de indivíduos em tempos diferentes (análise longitudinal). Este processo permite a produção de mapas estatísticos paramétricos, os quais evidenciam os voxels com intensidade de sinal (concentração) de substância cinzenta significativamente diferente entre os grupos estudados, de acordo com um limiar de significância estatística definido pelo pesquisador.

2.3.2.1 Estudos com morfometria baseada em voxels em síndrome das pernas inquietas

Estudos que compararam encéfalos de portadores de SPI e controles saudáveis através da morfometria baseada em voxels não obtiveram resultados consistentes^(31,150–157) (Tabela 5). Na SPI, há estudos com morfometria baseada em voxels mostrando diferenças significativas em determinadas áreas do cérebro em comparação a controles. Alguns estudos mostraram aumento da substância cinzenta nos pulvinares do tálamo⁽¹⁵⁰⁾ e hipocampo esquerdo/giro orbito-frontal médio.⁽³¹⁾ Em outros foi detectada uma redução de substância cinzenta em córtex primário somatossensorial bilateral e motor esquerdo,⁽¹⁵¹⁾ hipocampo esquerdo, lobos parietais, regiões frontais mediais e cerebelo,⁽¹⁵⁷⁾ assim como redução de

substância branca em pequenas áreas do joelho do corpo caloso, cíngulo anterior e giro pré-central.⁽¹⁵³⁾ Entretanto, vários estudos utilizando morfometria baseada em voxels não encontraram diferenças estruturais em SPI^(152,154–156) principalmente quando corrigidos para múltiplas comparações. A variabilidade metodológica envolvendo os *softwares* utilizados, os equipamentos de RM, a seleção de pacientes e o tamanho das amostras podem ser responsáveis pelas diferenças nos resultados entre os estudos (Tabela 5).

Tabela 5. Resumo dos estudos envolvendo análise morfométrica por ressonância magnética em portadores de síndrome das pernas inquietas

Autor	Ano	Campo magnético	Número de pacientes/Controles	Software de análise	Modelo estatístico	Medida de gravidade e correlação com resultados	Resultados
Etgen et al. ⁽¹⁵⁰⁾	2005	1,5T	51/51	SPM1	GLM; sig. $p < 0,001$ não corrigido	IRLSS – sem correlação	Aumento de SC nos pulvinares bilateralmente
Hornyak et al. ⁽³¹⁾	2007	1,5T	14/14	SPM2	ANCOVA; sig. em $p < 0,05$ corrigido para múltiplas comparações	IRLSS – sem correlação	Aumento SC no hipocampo esquerdo e no giro orbitofrontal médio
Unrath et al. ⁽¹⁵¹⁾	2007	1,5T	63/40	SPM2	ANCOVA; sig. em $p < 0,05$ corrigido para pequenos volumes	IRLSS – sem correlação	Redução de SC em córtex primário somatossensorial bilateral e córtex motor primário esquerdo. Obs.: resultados não significantes quando realizada correção para comparações múltiplas
Celle et al. ⁽¹⁵²⁾	2010	1,5T	17/54	SPM2	Teste t de Student para amostras não pareadas, sig. em $p < 0,05$ corrigido para múltiplas comparações	IRLSS – sem correlação	Resultados não estatisticamente significantes
Connor et al. ⁽¹⁵³⁾	2011	3,0T	23/23	SPM5	Teste t de Student pareado, sig. em $p < 0,001$ não corrigido	IRLSS – sem correlação	Redução de volume de SB em pequenas áreas do joelho do corpo caloso, cíngulo anterior e giro pré-central

continua...

...continuação

Rizzo et al. ⁽¹⁵⁶⁾	2012	1,5T	20/20	SPM8 e FSL-VBM	ANCOVA; sig. em $p < 0,05$ corrigido para múltiplas comparações	IRLSS – sem correlação com dados MBV	Resultados não estatisticamente significantes
Comley et al. ⁽¹⁵⁴⁾	2012	1,5T	16/16	FSL-VBM	Teste t de Student para amostras não pareadas, sig. em $p < 0,05$ corrigido para múltiplas comparações	IRLSS – sem correlação	Resultados não estatisticamente significantes
Margariti et al. ⁽¹⁵⁵⁾	2012	1,5T	11/11	SPM5	Teste t de Student para amostras não pareadas, sig. em $p < 0,05$ corrigido para múltiplas comparações	IRLSS – sem correlação	Resultados não estatisticamente significantes
Chang et al. ⁽¹⁵⁷⁾	2015	3,0T	46/46	SPM8 e VBM8 toolbox	GLM; sig. $p < 0,001$ não corrigido	IRLSS - correlação com negativa com volume do culmen do cerebelo	Redução de volume em algumas áreas do giro hipocampal esquerdo, lobos parietais, áreas frontais mediais, áreas temporais laterais e cerebelo

SPM: *Statistical Parametric Mapping* (SPM); GLM: modelo linear geral; sig.: significância; IRLSS: escala de gravidade se sintomas em SPI do grupo internacional de estudos em síndrome das pernas inquietas; SC: substância cinzenta; ANCOVA: análise de covariância; FSL-VBM: FSL-voxel *based morphometry*; SB: substância branca; T: Tesla; MBV: morfometria baseada em voxels.

2.3.3 Análise de superfície cortical com ressonância magnética

A avaliação estrutural avançada por RM como método de comparação de espessura cortical por meio da técnica de análise de superfície é realizada por alguns *softwares*, dentre eles o *FreeSurfer software suite* (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>).

Com o *FreeSurfer* é realizada uma análise automatizada de todo o cérebro. São avaliadas imagens de RM do cérebro em 3D ponderadas em T1 (MPRAGE) com o seguinte fluxo: correção de movimentação e ponderação média das imagens, remoção do tecido não cerebral usando um procedimento de deformação híbrido da transição para superfícies,⁽¹⁵⁸⁾ transformação Tailarach automatizada, segmentação da substância branca subcortical e volumetria de estruturas profundas da substância cinzenta (incluindo hipocampo, amígdala, caudado, putâmen e ventrículos),⁽¹⁵⁹⁾ normalização da intensidade,⁽¹⁶⁰⁾ tesselação da fronteira entre substância cinzenta e branca,^(161,162) correção automatizada topológica e deformação da superfície guiada por mudanças de gradientes de intensidade para otimizar alocação das fronteiras branco/cinzenta e cinzenta/líquor.^(29,147) Com os modelos corticais estruturados, uma série de procedimentos de deformação podem ser implementados para a sequência de processamento e análise, incluindo inflar a superfície,⁽¹⁶³⁾ registrando um atlas esférico baseado nos padrões individuais de girificação cerebral para comparar a geometria cortical entre indivíduos.⁽¹⁶⁴⁾ Pode-se seguir com a segmentação separando o córtex em unidades identificando os giros e sulcos,⁽³²⁾ processo denominado parcelamento (Figura 4), e criar uma variedade de mapas corticais baseados em dados de superfície.

Fonte: Cortical parcellation [Internet]. Boston: FreeSurferWiki. 2017 [cited 2017 Dec 6]. Available from: <https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/CorticalParcellation>.⁽¹⁶⁵⁾

Figura 4. Atlas de parcelamento cortical de Desikan-Killiany

Esse método utiliza a intensidade e continuidade do volume tridimensional da imagem de RM para processos de segmentação e deformação afim de produzir representações da espessura cortical, calculada como a menor distância de cada ponto de vértex da superfície tessellada entre a fronteira da substância branca e cinzenta e o limite entre a substância cinzenta e o líquido (superfície pial)⁽¹⁴⁷⁾ (Figura 5).

A diferença entre estas duas superfícies indica a espessura cortical. Imagem do banco de dados da pesquisa.

Figura 5. Delimitação de superfície pial e fronteira da substância branca e cinzenta

Os mapas produzidos não são dependentes da resolução de voxels dos dados originais da imagem e, por isso, são capazes de detectar diferenças submilimétricas entre grupos. Esses procedimentos já foram inclusive validados em comparação com análises manuais^(166,167) e histológicas.⁽¹⁶⁸⁾

Apesar da análise por morfometria baseada em voxels apresentar um potencial exploratório elevado, há uma carência de poder estatístico para detecção de diferenças sutis em comparações multivariadas. A análise de superfície cortical aumenta o poder para a comparação de regiões homólogas cerebrais, tanto por exploração de cérebro total quanto por regiões de interesse, e diminui a grande variabilidade residual anatômica entre sujeitos em comparação com técnicas volumétricas.^(26,169–171) Assim, as estimativas de análise de superfície cortical servem como dados mais acurados das fronteiras citoarquitetônicas cerebrais.^(172,173)

2.3.3.1 Estudos de análise de superfície cortical com ressonância magnética em síndrome das pernas inquietas

Até o momento, não havia sido descrito o uso da metodologia de análise de superfície para comparação de espessura cortical em portadores de SPI. Como colocado no tópico anterior, esta técnica tem algumas vantagens em relação às previamente utilizadas para comparar a espessura cortical em indivíduos com SPI e controles. Tem, portanto, potencial para contribuir para o conhecimento sobre alterações estruturais no córtex de sujeitos com SPI.^(32,172)

3 MÉTODOS

3.1 Participantes

Indivíduos portadores de SPI primária foram recrutados eletronicamente via anúncios em plataformas digitais (*site* do Hospital Israelita Albert Einstein e redes sociais) e presencialmente em ambulatório especializado de Medicina do Sono do Hospital São Paulo. Após isso, foram submetidos a entrevista presencial com médico especialista em Medicina do Sono (SCM) na cidade de São Paulo. O estudo recrutou voluntários no período entre novembro de 2013 e agosto de 2015. Voluntários saudáveis com idade e sexo pareados aos portadores de SPI foram recrutados entre colaboradores do hospital, pessoas relacionadas aos pesquisadores e parentes não consanguíneos dos portadores de SPI.

3.1.1 Critérios de elegibilidade

Os critérios de inclusão para voluntários portadores de SPI foram:

1. Idade entre 18 e 70 anos
2. diagnóstico de forma primária de SPI atribuído de acordo com os critérios do IRLSSG.^(1,35)

Indivíduos foram excluídos do estudo se houvesse histórico de outras doenças neurológicas, exceto insônia associada a SPI, ou dados clínicos sugestivos de causas secundárias de SPI.^(1,174)

Para os controles, os critérios de inclusão foram:

1. Idade entre 18 e 70 anos
2. Sexo e preferência manual semelhantes aos dos grupos de pacientes portadores de SPI.

Os critérios de exclusão para controles foram: história pessoal ou familiar de sintomas de SPI ou de comorbidades neurológicas.

Além disso, foram critérios de exclusão para ambos os grupos:

1. A presença de contraindicações a EMT e RM (como uso de marca-passos, bombas de infusão implantadas, objetos metálicos nos olhos ou no crânio)
2. Histórico de epilepsia⁽¹⁷⁵⁾

3. Uso de medicações que influenciam na excitabilidade cortical medida por EMT nas últimas duas semanas (como antiepiléticos, neurolépticos, benzodiazepínicos ou antidepressivos)⁽¹⁷⁶⁾

4. Causas secundárias de SPI como histórico de deficiência de ferro, insuficiência renal crônica, polineuropatias, doenças da tireoide, deficiências de vitamina B12 e ácido fólico.

5. Alterações estruturais na RM de crânio tais como acidente vascular cerebral silencioso e malformações da transição crânio-cervical (Chiari).

3.1.2 Características dos participantes

A entrevista estruturada, exames clínico e neurológico foram realizados em todos os indivíduos.

Idade, sexo, cor da pele, ciclo menstrual em mulheres em idade fértil, preferência manual (lateralidade) pelo inventário de Edinburgh,⁽¹⁷⁷⁾ história familiar de SPI, região sintomática do corpo, tratamentos, presença de aumento, gravidade e qualidade de vida em SPI foram avaliados.

A gravidade dos sintomas foi aferida pela escala de gravidade do IRLSSG validada em português.^(50,51) Esta escala varia de 0 a 40, sendo que quanto maior o valor, maior a intensidade de sintomas de SPI. As formas de SPI podem ser categorizadas de acordo com a pontuação em leves (0-10), moderadas (11-20), graves (21-30) e muito graves (31-40). A pontuação na escala IRLSS foi encoberta do pesquisador que realizou os experimentos de EMT.

A qualidade de vida em portadores de SPI foi aferida pelo questionário de qualidade de vida em SPI⁽⁵⁶⁾ que varia de 0 a 100, sendo valores maiores associados a melhor qualidade de vida.

A sonolência excessiva diurna foi avaliada pela escala de sonolência diurna de Epworth^(178,179) com pontuação que varia entre 0 e 24. Valores maiores indicam maior sonolência diurna.

Antes e após o experimento de EMT, os voluntários foram questionados sobre a presença de desconforto nos membros naquele momento e graduaram sua intensidade em uma escala visual analógica de dor.

Esses instrumentos foram aplicados no dia dos experimentos de EMT e RM.

3.2 Desenho experimental

Trata-se de um estudo transversal, unicêntrico no qual pacientes portadores de SPI em diferentes grupos de intensidade de sintomas foram comparados com indivíduos saudáveis em relação a medidas de EMT e avaliação estrutural de RM de crânio por morfometria por análise de superfície.

Indivíduos portadores de SPI que já fizessem uso de medicações para controle da doença passaram por um período de suspensão da droga por no mínimo 1 semana (*wash-out*). Após esse período a medicação foi reiniciada. Esse procedimento foi autorizado pelo conselho de ética e consta no termo de consentimento livre e esclarecido.

Os experimentos de EMT e a realização da aquisição de imagens por RM foram realizados nas dependências do Hospital Israelita Albert Einstein, preferencialmente, no mesmo dia, no período da tarde, para aumentar a aderência ao protocolo de pesquisa e limitar o tempo de suspensão da medicação.

3.3 Desfechos

O desfecho primário deste estudo foi a medida da inibição intracortical por intervalo curto no córtex motor do hemisfério dominante em controles e portadores de SPI de acordo com a gravidade da doença.

Os desfechos secundários foram:

1. As medidas de período silente cortical no córtex motor dominante.
2. As medidas de limiar motor em repouso e em atividade no córtex motor dominante.
3. Espessura cortical em áreas motora primária, sensitiva primária e volume de substância cinzenta em caudados, globos pálidos, putâmens e tálamos.

A análise dos parâmetros de EMT também foi feita de forma encoberta do pesquisador principal, sendo realizada renomeação codificada aleatória

dos participantes, sem identificação de grupo, por outro pesquisador. Após a análise dos dados sem identificação de grupo a codificação foi aberta para efetuar as análises estatísticas.

A análise estrutural de substância cinzenta foi realizada de modo automatizado pelo *software FreeSurfer* versão 5.3.0.

3.4 Tamanho amostral

Pelo menos doze indivíduos por grupo deveriam ser incluídos nos grupos controle e SPI com intensidade grave e muito grave (SPI-mg) para detecção de uma diferença estatisticamente significativa de pelo menos 20% na inibição intracortical com um poder estatístico de 80%, definida como o desfecho primário do estudo. Este tamanho da amostra foi definido, considerando a variância das medidas de inibição intracortical relatadas por Tergau, em 1999,⁽¹¹⁴⁾ e Nardone, em 2006,⁽¹¹⁵⁾ usando a fórmula de estimativa amostral para uma dada diferença entre grupos por análise de variâncias no *software* SPSS versão 17.0.

3.5 Protocolo de estimulação magnética transcraniana

Os experimentos de EMT foram realizados em uma sala silenciosa e confortável. Os voluntários deveriam permanecer sentados com os braços repousados e apoiados (Figura 6A), com os olhos abertos e alertas, para o controle de vigília durante o procedimento. Foi solicitado evitar o consumo de bebidas alcoólicas por 48 horas e de bebidas contendo cafeína ou estimulantes por 24 horas antes do estudo. Antes do início do experimento e ao final do mesmo foi aplicada uma escala visual analógica para desconforto nos portadores de SPI.^(180,181) A presença de desconforto em membros inferiores avaliada pela escala visual analógica foi classificada em “ausente” (se pontuação = 0) ou “presente” (se pontuação > 0).

O protocolo de EMT avaliou parâmetros de limiar motor em repouso, limiar motor em atividade, período silente cortical e inibição intracortical mediante captação eletromiográfica com eletrodos de superfície de cloreto de prata (Kendall®, Covidien, EUA) na montagem habitual de tendão-músculo no abdutor do dedo mínimo

do dimidio dominante (Figura 6B). Este músculo já foi utilizado em estudos de EMT em SPI que mostraram alterações na inibição intracortical. Nós optamos por restringir as medidas de EMT para apenas um hemisfério (dominante) e registro na mão contralateral com intuito de evitar a fadiga e oscilações na atenção que podem comprometer as medidas de excitabilidade cortical em longas sessões experimentais.^(182,183)

Figura 6. A. Sala de experimentos de estimulação magnética transcraniana. B. Montagem de eletrodos para captação de potenciais evocados motores em músculo abdutor do dedo mínimo

O sinal de eletromiografia foi amplificado (x1000) e filtrado em uma banda de frequência entre 2Hz e 2kHz. A captação foi realizada em um computador com *software* de processamento de linguagem gráfica (LabVIEW®, National Instruments, EUA) com uma taxa de amostragem de 5kHz.⁽¹⁸⁴⁾ O dispositivo de “gatilho condicional” foi utilizado para enviar pulsos de EMT apenas quando o músculo abdutor do dedo mínimo estivesse relaxado (atividade eletromiográfica de base $\leq 50\mu V$ por pelo menos 1 segundo).

Pulsos monofásicos foram aplicados sobre o córtex motor primário dominante com uma bobina em 8 (MC-B70, 2 por 97mm, 31kT/s), conectada ao estimulador magnético (Magpro X100®, MagVenture, Dinamarca). A intersecção das asas da bobina foi posicionada tangencialmente ao crânio em um ângulo de 45 graus da linha média, induzindo uma corrente elétrica no córtex no sentido posterior-anterior,

a qual é a ideal para o estímulo trans-sináptico do trato corticoespinhal.^(86,185) A posição ótima na cabeça (*hotspot*) para obtenção de potenciais evocados motores no abdutor do dedo mínimo contralateral foi definida movendo a bobina na direção anteroposterior e médio-lateral em espaços de 0,5cm, com intensidade inicial ajustada para 50% da capacidade máxima do estimulador.⁽¹⁷⁾

3.5.1 Medidas de estimulação magnética transcraniana no estudo

3.5.1.1 Limiares motores

O limiar motor em repouso foi definido como a menor intensidade de estímulo capaz de evocar um potencial evocado motor de pelo menos 50 μ V de amplitude pico-a-pico no abdutor do dedo mínimo, em no mínimo 3 de 6 estímulos.⁽¹⁷⁾

O limiar motor em ação foi definido como a menor intensidade de estímulo necessária para induzir potenciais evocados motores seguidos por um período silente cortical em pelo menos 3 de 6 testes durante a contração muscular do abdutor do dedo mínimo de 20% (± 10) da contração voluntária máxima (média de 5 contrações máximas realizadas no início do protocolo). A intensidade inicial dos pulsos foi de 80% do limiar motor em repouso. Tanto para a medida do limiar motor em repouso quanto do limiar motor em atividade, o intervalo entre os pulsos foi randomizado entre 5 e 7 segundos.

3.5.1.2 Período silente cortical

Para a aferição do período silente cortical, a EMT foi aplicada com intensidade de 150% do limiar motor em atividade durante uma contração voluntária de 50% (± 10) da contração voluntária máxima contra resistência. O nível de contração muscular foi estimado pela raiz quadrada média da atividade eletromiográfica⁽¹⁸⁶⁾ e liberada pelo gatilho condicional,⁽¹⁸⁴⁾ fazendo que o estímulo só fosse aplicado quando o nível de contração ideal fosse alcançado.

Dez testes foram realizados em cada voluntário. Em cada teste, 100ms foram registrados pré-pulso de EMT e 700ms pós-pulso. Um *playback* no

programa LabVIEW^{®(184)} foi utilizado para revisar todos os traçados. *playbacks* de dados brutos foram inspecionados visualmente em busca de artefatos e alterações na linha de base. Para serem incluídos na análise, cada voluntário deveria ter pelo menos 5 testes com qualidade adequada.

Nós usamos uma abordagem manual para a medida da duração do período silente cortical. Os dados foram exportados para o formato *American Standard Code for Information Interchange* (ASCII), retificados no Excel[®] (Microsoft, EUA). A amplitude média da eletromiografia no período de 100ms antes do estímulo foi definido com a atividade de base.

Diferenças médias consecutivas entre a atividade eletromiográfica média retificada ponto a ponto foram calculadas de acordo com o método comumente denominado processo de controle estatístico,⁽¹⁸⁷⁾ que determina a variação e limites da diferença média consecutiva e atividade de base permitindo métodos de análise visual do início e do final do período de silêncio eletromiográfico.

O início do período silente cortical foi definido como a intersecção da queda na atividade eletromiográfica ao final do potencial evocado motor. O final do período silente cortical foi definido como o retorno da atividade eletromiográfica acima da atividade de base (Figura 2).

A duração do período silente cortical foi calculada subtraindo o valor do tempo final pelo tempo inicial da queda de atividade eletromiográfica. Todos os dados foram avaliados de forma independente por 2 avaliadores (SCM e JP). Para cada indivíduo, todos os testes foram analisados individualmente e, se qualitativamente estivesse viável (ausência de ruído ou artefatos), seria incluído na análise da duração média do período silente cortical.

3.5.1.3 Inibição Intracortical

A inibição intracortical foi testada através do paradigma de pulso pareado da EMT. A intensidade do estímulo condicionante foi fixada em 80% do limiar motor em repouso. O estímulo teste basal foi definido como aquele capaz de gerar potenciais evocados motores com amplitudes entre 0,5 e 1,0 milivolts (pico-a-pico), tipicamente por volta de 130% limiar motor em repouso.⁽⁹²⁾ O intervalo inter-pulsos foi de 2ms. Dez testes condicionados foram adquiridos aleatoriamente, intercalados por

dez estímulos teste, com intervalos variáveis entre 5 e 7 segundos. Em cada teste, 100ms foram registrados após o pulso e 40ms antes do pulso.

Os dados brutos foram revisados (JP) e analisados de modo cego para a gravidade dos sintomas por outro investigador (SCM). Testes com artefatos e flutuações de linha de base foram descartados da análise. As amplitudes dos potenciais evocados motores foram medidas pico-a-pico usando a ferramenta de *playback* do programa LabVIEW®.⁽¹⁸⁴⁾ A amplitude média dos potenciais evocados motores dos testes condicionados e dos testes basais foram calculadas. *Outliers* (± 2 desvios-padrão do valor médio do potencial evocado motor) foram excluídos. A inclusão de pelo menos 5 testes condicionados e 5 testes basais de qualidade adequada foi considerado um critério para a inclusão do sujeito na análise. O parâmetro de inibição intracortical foi expresso como o valor relação da amplitude média do potencial evocado motor condicionante sobre a amplitude média do potencial evocado motor basal.^(92,188)

3.6 Ressonância magnética

3.6.1 Aquisição de imagens de ressonância magnética

Imagens de RM do crânio foram adquiridas em um aparelho de 3,0 Tesla de campo magnético (Siemens Medical Solutions, Erlangen, Alemanha). Imagens do cérebro ponderadas em T1 foram adquiridas na sequência *Magnetization-Prepared Rapid-Acquisition Gradient Echo* (MPRAGE),⁽¹⁸⁹⁾ conforme descrição: 176 cortes sagitais com voxels isotrópicos de 1mm³, matriz 256 x 256, *field-of-view* de 256mm, *Flip Angle* 12°, tempo de repetição 2500ms, tempo de eco 3,45ms, 1 média, banda 190 Hz/Pixel. Também foram adquiridas imagens em sequência de imagem de tensor de difusão (DTI - *Diffusion tensor imaging*) com os seguintes parâmetros: 60 cortes axiais angulados pelas comissuras anterior e posterior, com espessura de 2mm e espaçamento de 0,2mm, *field-of-view* de 260mm, matriz de 128 x 128 (voxels isotrópicos de 2mm cúbicos), tempo de repetição de 6900ms, tempo de eco de 77ms, 1 média e saturação de gordura, 35 direções, *b-value* de 1000s/mm², banda de 1562 Hz/Pixel. As imagens de DTI serão analisadas em estudo posterior por outra

pesquisadora (JP) na mesma linha de pesquisa de SPI (Número projeto SGPP: 2527-15 e número no Comitê de Ética CAAE: 54069516.4.0000.0071).

Os indivíduos foram submetidos ao exame conforme protocolo específico do centro de imagem do hospital. Os cortes anatômicos foram revisados por um neurorradiologista (EAJr) e na eventualidade de lesões incidentais os indivíduos foram convocados, receberam informações e um relatório da imagem assinado pelo neurorradiologista responsável e pelo pesquisador, sendo então orientados a prosseguir seguimento médico caso indicado. Estes indivíduos foram excluídos do estudo.

3.6.2 Processamento da ressonância magnética

A morfometria através da análise de superfície cortical foi realizada com o *software FreeSurfer suite* versão 5.3.0 disponível gratuitamente (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>). Detalhes e procedimentos sequenciais do *software* foram abordados na seção 2.3.3.

A espessura cortical e os volumes subcorticais foram calculados automaticamente pelo processo de análise do *FreeSurfer*.⁽¹⁹⁰⁾ Suavização com uma Kernel Gaussiana de 10mm *full width at half-maximum* (FWHM) foi aplicada nos mapas corticais de cada indivíduo para análise de cérebro total. As espessuras corticais das áreas de interesse foram adquiridas através do parcelamento em atlas de Desikan-Kallianiy e mapas citoarquitetônicos baseados em áreas de Brodmann: giro pré-central, giro pós-central, giro paracentral (áreas de Brodmann BA1, 2, 3a, 3b, 4a, 4p).

Os dados de imagem foram revisados pelo pesquisador principal (SCM) e por neurorradiologista com experiência em estudos de análise de superfície (EAJ) para checar adequação da segmentação e parcelamento da imagem do cérebro de cada voluntário.

3.7 Análise estatísticas

3.7.1 Características dos indivíduos

Variáveis categóricas foram descritas por números absolutos e frequências. Variáveis quantitativas foram descritas por médias e desvios-padrão ou medianas e intervalo interquartil.

A classificação do grupo dos portadores de SPI foi feita de acordo com a graduação da escala IRLSS, sendo que indivíduos com valores de entre 0 e 20 foram considerados como portadores de doença leve/moderada (SPI-lm). Aqueles com valores de IRLSS entre 21 e 40 pontos foram incluídos no grupo de graves/muito graves (SPI-mg). Além disso portadores de SPI com início de sintomas antes do 40 anos de idade foram classificados como SPI de início precoce e acima dessa idade como SPI de início tardio.⁽¹⁹¹⁾

Dados demográficos e variáveis clínicas entre os grupos SPI-lm, SPI-mg e controles foram comparados com ANOVA *one-way*, teste de Kruskal-Wallis ou teste exato de Fisher de acordo com a natureza e distribuição dos dados. Quando comparados dados demográficos e clínicos entre os grupos SPI-lm e SPI-mg foram utilizados testes *t* de Student, teste de Mann-Whitney e teste exato de Fisher a depender da natureza e distribuição dos dados.

A comparação da frequência de desconforto em membros inferiores antes ou após a sessão de EMT entre os grupos SPI-lm e SPI-mg foi realizada com o teste exato de Fisher.

As análises estatísticas deste estudo foram realizadas usando o *software* SPSS 17.0 (SPSS Inc. Released 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Chicago: SPSS Inc.)

3.7.2 Desfechos de estimulação magnética transcraniana

Desfechos de EMT foram comparados entre os grupos SPI-lm, SPI-mg e controles com análise de variância (ANOVA) *one-way* e teste post-hoc de Tukey quando aplicável. Dados de inibição intracortical não apresentavam distribuição normal e foram submetidos a transformação logarítmica para análise paramétrica.

Realizamos três análises post-hoc em relação aos dados de inibição intracortical:

1. Comparamos a inibição intracortical entre portadores de SPI que tiveram algum grau de desconforto durante a sessão de EMT, e os que não referiram sintomas, utilizando ANOVA *one-way*.
2. Comparamos a inibição intracortical entre controles e portadores de SPI sem antecedente de insônia, utilizando ANOVA *one-way*.
3. Avaliamos a sensibilidade, a especificidade e acurácia diagnóstica da inibição intracortical em diferenciar portadores de SPI e controles através de uma curva ROC. A acurácia da curva ROC foi baseada na área abaixo da curva, sendo que valores maiores que 0,70 foram considerados relevantes.^(192,193) O valor limite de inibição intracortical na curva ROC para o diagnóstico foi definido como aquele que demonstrava maior relação sensibilidade e especificidade na distinção dos grupos.

3.7.3 Análise morfométrica de ressonância magnética

Modelos lineares generalizados no SPSS e uma avaliação exploratória de cérebro inteiro no programa QDEC do *FreeSurfer* foram utilizados para investigar diferenças estruturais em substância cinzenta em todo córtex e áreas subcorticais. Nessa análise, os grupos SPI-lm e SPI-mg, foram unidos, formado o grupo de todos os voluntários portadores de síndrome das pernas inquietas, independentemente da gravidade (SPI-tot) para aumentar o poder estatístico dos testes.

Comparações de controles com o grupo SPI-tot e isoladamente com o grupo SPI-mg foram realizadas, assim como entre os portadores de SPI que não usavam medicação específica previamente e controles, controlando para as variáveis idade e sexo na análise de espessura cortical e de idade, sexo e volume intracraniano total em ambos os hemisférios, quando avaliando volume de estruturas subcorticais. Uma ferramenta de análise de poder post-hoc para *FreeSurfer* (*FSpwr tool*)⁽¹⁹⁴⁾ foi utilizada na avaliação da comparação da espessura cortical e volume subcortical entre os grupos.

A avaliação de regiões de interesse foi baseada em hipóteses estabelecidas a priori, de acordo com as teorias sobre a fisiopatologia da SPI.

3.8 Aspectos éticos

O comitê de ética local aprovou o estudo sob o número (CAAE 20326813.6.0000.0071) e todos os voluntários concordaram em participar e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Todos os procedimentos foram realizados em acordo com padrões éticos institucionais e nacionais, assim como de acordo com a Declaração de Helsinki, de 1964, e suas emendas.

4 RESULTADOS

4.1 Seleção de participantes

Duzentos e oitenta e quatro indivíduos foram triados de maneira eletrônica ou presencial. As figuras 7-10 mostram o fluxo de recrutamento e inclusão de portadores de SPI e de controles.

Foram realizados exames de EMT em 42 portadores de SPI. Três foram excluídos por apresentarem alterações estruturais na RM de crânio: no primeiro paciente foi encontrado infarto lacunar em ponte, o segundo apresentou infarto lacunar em cerebelo e malformação de Arnold-Chiari tipo 1 e no terceiro foram detectados infartos lacunares em tálamos. Quatro foram excluídos por limiar motor (1) ou intensidade correspondente a 150% do limiar motor em atividade (3) não mensuráveis (acima da capacidade máxima do aparelho). Um outro exame foi excluído porque, após seu término, o voluntário informou fazer uso das medicações fluoxetina e topiramato em fórmula para emagrecer (critério de exclusão). Portanto, foram analisados resultados de 34 exames de EMT.

Vinte e oito controles saudáveis foram avaliados por EMT sendo que destes dois foram excluídos por limiar motor acima da capacidade máxima do aparelho, e dois por terem descoberto após os exames, que eram parentes de indivíduos com SPI. Portanto, foram analisados resultados de 24 exames.

Estudos de RM de encéfalo foram realizados em 41 indivíduos portadores de SPI. Em três exames foram identificadas as alterações estruturais descritas acima. Dois exames apresentaram excesso de artefato de movimentação e por isso foram excluídos. Um paciente que realizou exame de RM de crânio não respondeu ao questionário de gravidade de sintomas e foi excluído do estudo. Portanto, foram analisados dados de RM de 35 indivíduos com SPI.

Foram realizados 28 exames de RM de encéfalo em controles saudáveis. Dois destes descobriram após a inclusão no estudo que tinham parentes de primeiro grau com histórico de SPI e por isso foram excluídos. Portanto, foram incluídos na análise de RM 26 controles saudáveis.

Entre os pacientes que realizaram os experimentos e tiveram seus dados analisados em conjunto de EMT e RM tivemos 31 portadores de SPI e 23 controles.

Estimulação Magnética Transcraniana

A. Portadores de SPI

*Outras razões incluem a dificuldade de aderir ao protocolo devido falta de tempo ou distância do local de pesquisa.

EMT: estimulação magnética transcraniana; LMa: limiar motor em atividade; LMr: limiar motor em repouso; SPI: síndrome das pernas inquietas.

Figura 7. Entrada de voluntários no grupo de portadores de síndrome das pernas inquietas para os exames de estimulação magnética transcraniana

Estimulação Magnética Transcraniana

B. Controles

*Outras razões incluem a dificuldade de aderir ao protocolo devido falta de tempo ou distância do local de pesquisa.

EMT: estimulação magnética transcraniana; LMr: limiar motor em repouso

Figura 8. Entrada de voluntários no grupo de controles para os exames de estimulação magnética transcraniana

Ressonância Magnética

A. Portadores de SPI

*Outras razões incluem a dificuldade de aderir ao protocolo devido falta de tempo ou distância do local de pesquisa.

EMT: estimulação magnética transcraniana; RM: ressonância magnética; SPI: síndrome das pernas inquietas.

Figura 9. Entrada de voluntários no grupo de portadores de síndrome das pernas inquietas para os exames de ressonância magnética

Ressonância Magnética

B. Controles

*Outras razões incluem a dificuldade de aderir ao protocolo devido falta de tempo ou distância do local de pesquisa.

RM: ressonância magnética

Figura 10. Entrada de voluntários no grupo de controles para os exames de ressonância magnética

4.2 Características dos indivíduos

Dados demográficos dos participantes estão apresentados nas tabelas 6 e 7.

Tabela 6. Características pessoais e avaliações do sono dos pacientes, segundo o grupo de estudo

Característica	Grupo			Valor-p
	Controle (n=26)	SPI leve a moderada (n=13)	SPI grave a muito grave (n=24)	
Idade em anos (média ± DP)	42,6 ± 11,2	41,4 ± 15,9	48,4 ± 12,3	0,172 ¹
Gênero (F/M)	22/4	11/2	18/6	0,647 ²
Preferência manual (direita/esquerda)	25/1	13/0	23/1	1,000 ²
Fase do ciclo menstrual [§] – n(%)				0,109 ²
Menopausa	4(19,0)	3(27,2)	11(64,7)	
Anticoncepcional	9(42,8)	6(54,4)	5(29,4)	
Menstruação em intervalo ACO	3(14,2)	0(0,0)	0(0,0)	
Lútea	3(14,2)	1(9,0)	1(5,9)	
Folicular	2(9,5)	0(0,0)	0(0,0)	
Menstruação	0(0,0)	1(9,0)	0(0,0)	
Presença de insônia (Não/Sim)	21/5	8/5	11/13	0,036 ²
Escala de sonolência de Epworth (média ± DP)	7,7 ± 3,7	10,9 ± 5,2	11,7 ± 4,9	0,007 ¹

§: porcentagens calculadas sobre o total de mulheres no grupo; no grupo Controle, duas mulheres sem informação sobre fase do ciclo menstrual. DP: desvio-padrão; F: sexo feminino; M: sexo masculino; ACO: anticoncepcional; valor-p¹: ANOVA *one-way*, valor-p²: teste exato de Fisher.

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos controle e os subgrupos de indivíduos com SPI quanto a idade, sexo, preferência manual ou ciclo menstrual em mulheres em idade fértil. Os portadores de SPI apresentaram valores maiores na escala de sonolência de Epworth, indicando maior sonolência diurna (Figura 11). Conforme esperado, insônia foi mais frequente em portadores de SPI que em controles (Tabela 6).

*post-hoc Tukey $T=2,10$ $p=0,099$; **post-hoc Tukey $T=3,17$ $p=0,007$. Leve-mod: síndrome das pernas inquietas leve e moderada; Grave-Muito Grave: síndrome das pernas inquietas grave e muito grave.

Figura 11. Pontuações na escala de sonolência de Epworth em subgrupos de análise (média±desvio padrão)

A comparação entre os grupos portadores de SPI-lm e SPI-mg quanto a características da doença mostraram um maior tempo até o diagnóstico em portadores de SPI-mg, um maior tempo de evolução de doença e menor qualidade de vida nestes indivíduos (Tabela 7). A frequência de desconforto antes ou após o procedimento de EMT é apresentada na tabela 7.

Tabela 7. Características da síndrome das pernas inquietas e avaliações dos pacientes, segundo grupos de gravidade dos sintomas

Dados clínicos	Grupo		Valor-p
	SPI leve a moderada (n=13)	SPI grave a muito grave (n=24)	
Escore total na Escala de Gravidade de Sintomas de SPI (IRLSS) – mediana (IIQ)	17,0 (8,0 – 17,5)	27,5 (22,0 – 31,7)	<0,001 ¹
Graduação conforme IRLSS – n(%)			<0,001 ¹
Leve (0 a 10)	4(30,7)	0(0,0)	
Moderada (11 a 20)	9(69,2)	0(0,0)	
Grave (21 a 30)	0(0,0)	16(66,6)	
Muito grave (31 a 40)	0(0,0)	8(33,3)	
Idade de início dos sintomas (anos) – Mediana (IIQ)	27,0 (15,5 – 42,0)	22,5 (13,0 – 39,0)	0,494 ¹
Idade de início dos sintomas – n(%)			1,0 ²
Início antes dos 40 anos	10(76,9)	18(75,0)	
Início após os 40 anos	3(23,1)	6(25,0)	
Tempo até diagnóstico em anos - Mediana (IIQ)	8 (3,0 – 14,5)	22,5 (9,0 – 33,0)	0,041 ¹
Tempo de evolução da doença (anos) – mediana (IIQ)	7,0 (4,5 – 14,0)	22,0 (10,5 – 33,7)	0,028 ¹
Afeta mais de uma região além das pernas (Sim/Não)	2/11	8/16	0,439 ²

continua...

...continuação

História familiar de SPI (Sim/Não)	10/3	16/8	0,710 ²
Usava medicação para SPI na última semana e precisou suspender (Sim/Não)	0/13	6/18	0,071 ²
Escore na Escala de Qualidade de Vida para SPI (%) – média ± DP	77,6 ± 15,4	54,7 ± 15,0	<0,001 ³
Presença de desconforto em membros antes ou após EMT (Sim/Não)	3/10	11/13	0,288 ²

IIQ: intervalo inter-quartil; IRLSS: escala de gravidade em síndrome das pernas inquietas do grupo Internacional de estudos em SPI; EMT: estimulação magnética transcraniana. Valor-p¹: teste de Mann-Whitney, valor-p²: teste exato de Fisher; valor-p³: teste *t* de Student.

4.3 Desfechos de estimulação magnética transcraniana

4.3.1 Desfecho primário: inibição intracortical

A inibição intracortical mostrou-se significativamente reduzida em pacientes portadores de formas graves e muito graves (SPI-mg) e forma leve e moderada (SPI-lm) em comparação a controles (ANOVA *one-way* $F=8,83$, $p<0,001$) (Tabela 8 e Figura 12). Análise post-hoc por testes de Tukey mostram diferenças estatisticamente significantes entre o grupo SPI-mg e controles ($T=3,73$, $p<0,001$), assim como entre o grupo SPI-lm e controles ($T=3,27$, $p=0,005$). Porém, não houve diferença significativa entre o grupo SPI-mg e o grupo SPI-lm. O tamanho amostral necessário para encontrar uma diferença estatisticamente significativa a nível de 5% com os dados encontrados neste estudo seria de 148 indivíduos por grupo.

ANOVA *one-way* $F=8,83$, $p<0,001$; *post-hoc Tukey $T=3,27$ $p=0,005$; **post-hoc Tukey $T=3,73$ $p=0,001$; - ● = outliers.

Figura 12. Valores da inibição intracortical por grupos

4.3.2 Análises post-hoc de inibição intracortical

Comparamos a inibição intracortical entre pacientes que tiveram algum grau de desconforto durante a sessão de EMT, e os que não referiram sintomas. A inibição intracortical foi menor nos indivíduos que referiram sintomas ($70,8 \pm 42,9\%$) que nos indivíduos sem sintomas ($48,2 \pm 37,2\%$), porém a diferença da inibição intracortical entre os grupos não foi estatisticamente significativa (ANOVA *one-way*; $F=3,86$, $p=0,059$). Apesar da frequência dos sintomas no grupo SPI-mg ter sido maior que no grupo SPI-lm, a presença dos sintomas durante a sessão de EMT não foi diferente entre os grupos de gravidade estudados (teste exato de Fisher $p=0,27$).

Quando selecionados apenas voluntários não portadores de insônia, a comparação entre o grupo controle e os grupos SPI-lm e SPI-mg mostrou uma diferença estatisticamente significativa pelo método ANOVA *one-way* ($F=4,22$; $p=0,024$). Análises *post-hoc* por testes de Tukey mostraram diferenças estatisticamente significantes entre o grupo SPI-mg e controles ($p=0,028$), como se observa na análise principal do estudo, mas não entre o grupo SPI-lm e controles ($p=0,168$).

A análise por curva ROC permitiu prever o grupo de portadores de SPI quando o *cut-off* do valor da inibição intracortical esteve em 31,5% e acima com uma sensibilidade de 63,6% e especificidade de 86,7% (área abaixo da curva=0,78, 95% CI 0,65-0,88, $p<0,0001$) (Figura 13).⁽¹⁹³⁾

ROC: *receiver operating characteristic*. Área abaixo da curva=0,78, 95% CI 0,65-0,88, $p<0,0001$.

Figura 13. Dados de inibição intracortical para discriminar a presença de síndrome das pernas inquietas entre os indivíduos do estudo

4.3.3 Desfechos secundários: outras medidas de estimulação magnética transcraniana

Não houve diferenças entre os grupos controle, SPI-lm e SPI-mg quanto ao limiar motor em repouso (poder estatístico=89,1%, considerando uma diferença mínima esperada significativa de 15% no limiar motor em repouso entre os grupos), limiar motor em atividade (poder estatístico=87,8%, considerando uma diferença mínima esperada de 10% no limiar motor em atividade entre os grupos) assim como quanto à duração do período silente cortical (poder estatístico=69,2%, considerando uma diferença mínima esperada de 32ms no período silente cortical) (Tabela 8). Também não foram encontradas diferenças na duração do período silente cortical quando comparados o grupo controle e o grupo SPI-mg ($F=0,84$; $p=0,365$).

Tabela 8. Parâmetros de excitabilidade motora cortical por grupo de estudo

Parâmetro	Grupo			F	Valor-p
	Controle (n=24)	SPI leve a moderada (n=12)	SPI grave a muito grave (n=22)		
Limiar Motor em repouso (%)					
Média ± DP	67,9 ± 10,0	63,4 ± 12,8	69,7 ± 12,8	1,13	0,330 ¹
Limiar motor em atividade (%)					
Média ± DP	53,7 ± 8,2	50,0 ± 6,8	53,0 ± 8,8	0,80	0,454 ¹
Período silente cortical medido pela média (ms) [§]					
Média ± DP	114,9 ± 27,5	111,5 ± 27,2	106,7 ± 32,5	0,44	0,649 ¹
Inibição Intracortical (%) ^{§§}					
Mediana; IIQ	19,3; 13,2 – 27,8	51,6; 18,4 – 108,6	42,7; 27,0 – 81,1	8,83	<0,001 ²

§: Na avaliação de período silente cortical, um voluntário do grupo grave-muito grave foi excluído por artefato no traçado. §§: na avaliação de inibição intracortical, um voluntário do grupo controle e um do grupo grave-muito grave foi excluído por artefato no traçado. DP: desvio-padrão; F: valor estatística F; IIQ: intervalo inter-quartil. Valor-p¹: ANOVA *one-way*, valor-p²: ANOVA *one-way em dados com transformação logarítmica*.

4.4 Resultados de análise morfométrica de ressonância magnética

4.4.1 Análise por regiões de interesse

Não houve diferenças entre os indivíduos do grupo controle e os indivíduos com SPI (grupo SPI-tot – todos os indivíduos dos grupos SPI-lm e SPI-mg reunidos em um só grupo) quanto à superfície de espessura cortical de ambos hemisférios em regiões motoras e sensitivas primárias (áreas de Brodmann BA1, 2, 3a, 3b, 4a, 4p), ao volume dos caudados, globos pálidos, putâmens ou tálamos (Tabelas 9-12).

Um ferramenta de análise de poder post-hoc para FS (*FSpwr tool*)⁽¹⁹⁴⁾ foi utilizada na avaliação da comparação da espessura cortical entre os grupos. Com o número amostral de 24 indivíduos por grupo tem-se um poder estatístico de 83,6% na análise entre grupos SPI-tot e controles, quando utilizado parâmetro de suavização de imagem de 10mm (FWHM) e uma diferença mínima de 0,25mm de espessura entre as áreas comparadas. Quanto à análise de estruturas subcorticais, a ferramenta *FSpwr tool* definiu para o tamanho amostral pelo menos 24 indivíduos por grupo com uma diferença percentual entre as estruturas de pelo menos 10%, os valores de poder estão expressos na tabela 13.

A comparação de dados entre o grupo controle e o grupo SPI-mg, assim como análise *post-hoc* comparando os portadores de SPI virgens de tratamento,

também não evidenciou áreas de interesse com diferenças estruturais em hemisférios direito e esquerdo estatisticamente significantes entre os grupos (Tabelas 14-17).

4.4.2 Análise do cérebro inteiro

Não foram encontradas diferenças entre os grupos SPI-tot e controles na análise de cérebro inteiro. Não foi evidenciado nenhum cluster de espessura cortical relevante com um *false discovery rate* ajustado para $p < 0,05$, sendo o poder estatístico de 83,6% para o tamanho amostral mínimo de 24 indivíduos por grupo com FWHM de 10mm.

Tabela 9. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de espessura cortical (micrômetros) em áreas específicas do hemisfério direito em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas independente da gravidade

Área	Grupo		Diferença estimada entre os grupos SPI-tot e Controle (IC 95%)	Valor-p
	Controle Média estimada (IC 95%)	SPI-tot Média estimada (IC 95%)		
Paracentral				
Sexo feminino	2452,452 (2399,23 - 2506,85)	2453,004 (2405,9 - 2501,03)	-0,550 (-95,26 - 94,15)	>0,999
Sexo masculino	2453,004 (2405,9 - 2501,03)	2451,433 (2364,65 - 2541,4)	-0,550 (-95,19 - 94,09)	>0,999
Pós-central				
Sexo feminino	2056,580 (2003,5 - 2111,06)	2024,496 (1978,45 - 2071,61)	32,080 (-61,81 - 125,97)	>0,999
Sexo masculino	2024,496 (1978,45 - 2071,61)	1992,730 (1908,93 - 2080,21)	31,580 (-60,91 - 124,07)	>0,999
Pré-central				
Sexo feminino	2462,547 (2415,15 - 2510,88)	2519,729 (2476,89 - 2563,3)	-57,180 (-142,11 - 27,75)	0,454
Sexo masculino	2519,729 (2476,89 - 2563,3)	2461,853 (2384,39 - 2541,83)	-55,870 (-138,78 - 27,05)	0,453
BA1				
Sexo feminino	2268,243 (2184,33 - 2355,38)	2272,293 (2196,36 - 2350,86)	-4,050 (-156,92 - 148,82)	>0,999
Sexo masculino	2272,293 (2196,36 - 2350,86)	2286,460 (2149,43 - 2432,23)	-4,080 (-157,88 - 149,73)	>0,999
BA2				
Sexo feminino	2168,739 (2106,34 - 2232,99)	2118,319 (2063,06 - 2175,05)	50,420 (-62,19 - 163,03)	>0,999
Sexo masculino	2118,319 (2063,06 - 2175,05)	2071,439 (1974,94 - 2172,65)	49,300 (-61,07 - 159,68)	>0,999
BA3a				
Sexo feminino	1638,097 (1593,59 - 1683,85)	1660,332 (1619,47 - 1702,23)	-22,240 (-103,73 - 59,26)	>0,999
Sexo masculino	1660,332 (1619,47 - 1702,23)	1617,661 (1546,59 - 1691,99)	-21,660 (-100,98 - 57,65)	>0,999

continua...

...continuação

BA3b				
Sexo feminino	1623,766 (1582,57 - 1666,03)	1608,673 (1571,81 - 1646,4)	15,090 (-59,3 - 89,49)	>0,999
Sexo masculino	1608,673 (1571,81 - 1646,4)	1567,966 (1503,23 - 1635,49)	14,710 (-57,86 - 87,28)	>0,999
BA4a				
Sexo feminino	2466,660 (2388,08 - 2547,83)	2558,408 (2484,26 - 2634,77)	-91,750 (-237,35 - 53,85)	0,579
Sexo masculino	2558,408 (2484,26 - 2634,77)	2479,089 (2350,81 - 2614,36)	-88,900 (-229,61 - 51,8)	0,573
BA4p				
Sexo feminino	2281,213 (2209,19 - 2355,58)	2343,422 (2276,65 - 2412,15)	-62,210 (-195 - 70,58)	>0,999
Sexo masculino	2343,422 (2276,65 - 2412,15)	2227,568 (2113,98 - 2347,26)	-59,130 (-185,16 - 66,89)	>0,999

N=26 no grupo Controle e n=35 no grupo SPI-tot; SPI-tot: todos os portadores de síndrome das pernas inquietas independente da gravidade; IC 95%: Intervalo de 95% de confiança; P: Valor de p para a comparação entre os grupos Controle e SPI-tot, após correção pelo método de Bonferroni. BA1: área de Brodmann 1; BA2: área de Brodmann 2; BA3a: área de Brodmann 3a; BA3b: área de Brodmann 3b; BA4a: área de Brodmann 4a; BA4p: área de Brodmann 4p.

Tabela 10. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de volume de estruturas subcorticais (micrômetros cúbicos) do hemisfério direito em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas independente da gravidade

Estrutura	Grupo		Diferença estimada entre os grupos SPI-tot e Controle (IC 95%)	Valor-p
	Controle	SPI-tot		
	Média estimada (IC 95%)	Média estimada (IC 95%)		
Tálamo				
Sexo feminino	7175,251 (6940,84 - 7417,58)	7233,066 (7023,33 - 7449,07)	-57,815 (-478,97 - 363,34)	>0,999
Sexo masculino	7233,066 (7023,33 - 7449,07)	7355,370 (6963,56 - 7769,22)	-58,792 (-486,88 - 369,29)	>0,999
Caudado				
Sexo feminino	3386,999 (3211,23 - 3572,38)	3503,018 (3342 - 3671,79)	-116,019 (-438,78 - 206,74)	>0,999
Sexo masculino	3503,018 (3342 - 3671,79)	3630,816 (3325,82 - 3963,78)	-120,252 (-454,41 - 213,91)	>0,999
Putâmen				
Sexo feminino	4711,081 (4532,84 - 4896,33)	4839,198 (4676,14 - 5007,94)	-128,120 (-453,39 - 197,15)	>0,999
Sexo masculino	4839,198 (4676,14 - 5007,94)	4954,920 (4650,45 - 5279,32)	-131,180 (-463,73 - 201,37)	>0,999
Pálido				
Sexo feminino	1538,212 (1463,38 - 1616,87)	1543,990 (1477,11 - 1613,9)	-5,779 (-141,83 - 130,28)	>0,999
Sexo masculino	1543,990 (1477,11 - 1613,9)	1653,420 (1523,92 - 1793,93)	-6,188 (-151,85 - 139,47)	>0,999

N=26 no grupo Controle e n=35 no grupo SPI-tot; SPI-tot: todos os portadores de síndrome das pernas inquietas independente da gravidade; IC 95%: Intervalo de 95% de confiança; P: Valor-p para a comparação entre os grupos Controle e SPI-tot, após correção pelo método de Bonferroni.

Tabela 11. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de espessura cortical (micrômetros) em áreas específicas do hemisfério esquerdo em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas independente da gravidade

Área	Grupo		Diferença estimada entre os grupos SPI-tot e Controle (IC 95%)	Valor-p
	Controle	SPI-tot		
	Média estimada (IC 95%)	Média estimada (IC 95%)		
Paracentral				
Sexo feminino	2432,591 (2378,46 - 2487,96)	2410,664 (2363,11 - 2459,18)	21,930 (-74,26 - 118,12)	>0,999
Sexo masculino	2410,664 (2363,11 - 2459,18)	2373,287 (2287,16 - 2462,66)	21,590 (-73,17 - 116,34)	>0,999
Pós-central				
Sexo feminino	2098,841 (2051,48 - 2147,3)	2079,335 (2037,91 - 2121,6)	19,510 (-64,29 - 103,3)	>0,999
Sexo masculino	2079,335 (2037,91 - 2121,6)	1987,626 (1914,31 - 2063,75)	18,650 (-61,49 - 98,78)	>0,999
Pré-central				
Sexo feminino	2524,069 (2473,66 - 2575,51)	2545,208 (2500,28 - 2590,94)	-21,140 (-110,98 - 68,7)	>0,999
Sexo masculino	2545,208 (2500,28 - 2590,94)	2461,527 (2381,11 - 2544,66)	-20,440 (-107,3 - 66,41)	>0,999
BA1				
Sexo feminino	2197,638 (2120,13 - 2277,98)	2225,815 (2154,63 - 2299,36)	-28,180 (-170,23 - 113,88)	>0,999
Sexo masculino	2225,815 (2154,63 - 2299,36)	2056,774 (1938,95 - 2181,76)	-26,040 (-157,17 - 105,1)	>0,999
BA2				
Sexo feminino	2288,381 (2233,75 - 2344,34)	2212,611 (2164,71 - 2261,57)	75,770 (-22,01 - 173,55)	0,245
Sexo masculino	2212,611 (2164,71 - 2261,57)	2184,121 (2099,54 - 2272,1)	74,790 (-22,07 - 171,66)	0,250
BA3a				
Sexo feminino	1721,512 (1669,9 - 1774,72)	1718,149 (1671,44 - 1766,17)	3,360 (-90,39 - 97,12)	>0,999
Sexo masculino	1718,149 (1671,44 - 1766,17)	1683,985 (1602,06 - 1770,1)	3,300 (-88,61 - 95,2)	>0,999
BA3b				
Sexo feminino	1846,936 (1804,27 - 1890,61)	1834,375 (1796,06 - 1873,51)	12,560 (-64,58 - 89,7)	>0,999
Sexo masculino	1834,375 (1796,06 - 1873,51)	1745,892 (1680,34 - 1814)	11,960 (-61,5 - 85,41)	>0,999
BA4a				
Sexo feminino	2538,488 (2466,54 - 2612,54)	2598,978 (2531,97 - 2667,76)	-60,490 (-193,08 - 72,1)	>0,999
Sexo masculino	2598,978 (2531,97 - 2667,76)	2481,015 (2366,88 - 2600,65)	-57,740 (-184,07 - 68,58)	>0,999
BA4b				
Sexo feminino	2352,219 (2265,21 - 2442,57)	2376,972 (2297,43 - 2459,27)	-24,750 (-184,28 - 134,78)	>0,999
Sexo masculino	2376,972 (2297,43 - 2459,27)	2280,425 (2144,03 - 2425,5)	-23,750 (-176,68 - 129,18)	>0,999

N=26 no grupo Controle e n=35 no grupo SPI-tot; SPI-tot: todos os portadores de síndrome das pernas inquietas independente da gravidade; IC 95%: Intervalo de 95% de confiança; P: Valor-p para a comparação entre os grupos Controle e SPI-tot, após correção pelo método de Bonferroni. BA1: área de Brodmann 1; BA2: área de Brodmann 2; BA3a: área de Brodmann 3a; BA3b: área de Brodmann 3b; BA4a: área de Brodmann 4a; BA4p: área de Brodmann 4p.

Tabela 12. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de volume de estruturas subcorticais (micrômetros cúbicos) do hemisfério esquerdo em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas independentemente da gravidade

Estrutura	Grupo		Diferença estimada entre os grupos SPI-tot e Controle (IC 95%)	Valor-p
	Controle	SPI-tot		
	Média estimada (IC 95%)	Média estimada (IC 95%)		
Tálamo				
Sexo feminino	7046,734 (6793,17 - 7309,77)	6855,678 (6636,55 - 7082,04)	191,060 (-259,12 - 641,23)	>0,999
Sexo masculino	6855,678 (6636,55 - 7082,04)	7078,243 (6664,42 - 7517,76)	197,260 (-268,54 - 663,06)	>0,999
Caudado				
Sexo feminino	3506,985 (3334,89 - 3687,96)	3629,707 (3472,07 - 3794,5)	-122,722 (-439,41 - 193,97)	>0,999
Sexo masculino	3629,707 (3472,07 - 3794,5)	3667,617 (3377,63 - 3982,51)	-124,004 (-443,63 - 195,62)	>0,999
Putâmen				
Sexo feminino	4856,994 (4671,38 - 5049,99)	4976,699 (4808,24 - 5151,06)	-119,704 (-457,18 - 217,77)	>0,999
Sexo masculino	4976,699 (4808,24 - 5151,06)	5117,384 (4799,56 - 5456,25)	-123,088 (-469,75 - 223,57)	>0,999
Pálido				
Sexo feminino	1670,845 (1597,01 - 1748,1)	1741,643 (1673,53 - 1812,52)	-70,798 (-206,4 - 64,81)	>0,999
Sexo masculino	1741,643 (1673,53 - 1812,52)	1792,568 (1664,41 - 1930,59)	-72,868 (-212,28 - 66,54)	>0,999

N=26 no grupo Controle e n=35 no grupo SPI-tot; SPI-tot: todos os portadores de síndrome das pernas inquietas independentemente da gravidade; IC 95%: Intervalo de 95% de confiança; P: Valor-p para a comparação entre os grupos Controle e SPI-tot, após correção pelo método de Bonferroni.

Tabela 13. Valores de poder estatístico de análise de estruturas subcorticais considerando diferença de pelo menos 10%, através da ferramenta FSpwr

Estrutura	Poder estatístico (%)	
	Direito	Esquerdo
Caudado	68,5	68,5
Globo pálido	79,2	73,0
Putâmen	79,2	76,0
Tálamo	93,4	88,9

Tabela 14. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de espessura (micrômetros) no hemisfério direito em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave

Área	Grupo		Diferença estimada entre os grupos SPI-mg e Controle (IC 95%)	Valor-p
	Controle	SPI-mg		
	Média estimada (IC 95%)	Média estimada (IC 95%)		
Paracentral				
Sexo feminino	2435,725 (2380,48 - 2492,25)	2427,755 (2365,22 - 2491,95)	7,970 (-104,78 - 120,72)	>0,999
Sexo masculino	2427,755 (2365,22 - 2491,95)	2474,725 (2372,91 - 2580,9)	8,120 (-106,86 - 123,1)	>0,999

continua...

...continuação

Pós-central				
Sexo feminino	2053,590 (2000,41 - 2108,18)	2015,014 (1956,2 - 2075,59)	38,580 (-69,02 - 146,17)	>0,999
Sexo masculino	2015,014 (1956,2 - 2075,59)	1995,887 (1902,31 - 2094,06)	38,210 (-68,6 - 145,02)	>0,999
Pré-central				
Sexo feminino	2452,606 (2402,81 - 2503,43)	2514,500 (2456,75 - 2573,61)	-61,890 (-164,75 - 40,96)	0,674
Sexo masculino	2514,500 (2456,75 - 2573,61)	2474,739 (2383,46 - 2569,51)	-60,920 (-161,88 - 40,05)	0,669
BA1				
Sexo feminino	2260,994 (2175,92 - 2349,4)	2219,230 (2125,23 - 2317,38)	41,760 (-130,93 - 214,46)	>0,999
Sexo masculino	2219,230 (2125,23 - 2317,38)	2280,838 (2126,12 - 2446,82)	42,920 (-134,94 - 220,79)	>0,999
BA2				
Sexo feminino	2164,064 (2103,81 - 2226,04)	2105,970 (2039,74 - 2174,35)	58,090 (-63,66 - 179,84)	>0,999
Sexo masculino	2105,970 (2039,74 - 2174,35)	2063,785 (1959,99 - 2173,08)	56,930 (-62,78 - 176,64)	>0,999
B3a				
Sexo feminino	1630,397 (1586,67 - 1675,33)	1664,647 (1614,13 - 1716,74)	-34,250 (-124,83 - 56,32)	>0,999
Sexo masculino	1664,647 (1614,13 - 1716,74)	1639,046 (1559,59 - 1722,54)	-33,720 (-122,71 - 55,27)	>0,999
BA3b				
Sexo feminino	1621,023 (1579,32 - 1663,83)	1579,355 (1533,59 - 1626,49)	41,670 (-42,27 - 125,61)	>0,999
Sexo masculino	1579,355 (1533,59 - 1626,49)	1559,609 (1486,8 - 1635,98)	41,150 (-41,99 - 124,29)	>0,999
BA4a				
Sexo feminino	2453,953 (2371,69 - 2539,07)	2551,451 (2454,41 - 2652,33)	-97,500 (-270,32 - 75,32)	0,820
Sexo masculino	2551,451 (2454,41 - 2652,33)	2490,184 (2339,3 - 2650,79)	-95,160 (-263,14 - 72,82)	0,810
BA4p				
Sexo feminino	2264,564 (2188,86 - 2342,89)	2342,209 (2254,06 - 2433,8)	-77,640 (-236,08 - 80,79)	>0,999
Sexo masculino	2342,209 (2254,06 - 2433,8)	2250,319 (2114,81 - 2394,51)	-74,600 (-226,39 - 77,19)	>0,999

N=26 no grupo Controle e n=22 no grupo SPI-mg; SPI-mg: portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave; IC 95%: Intervalo de 95% de confiança; P: Valor-p para a comparação entre os grupos Controle e SPI-mg, após correção pelo método de Bonferroni. BA1: área de Brodmann 1; BA2: área de Brodmann 2; BA3a: área de Brodmann 3a; BA3b: área de Brodmann 3b; BA4a: área de Brodmann 4a; BA4p: área de Brodmann 4p.

Tabela 15. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de volume de estruturas subcorticais (micrômetros cúbicos) no hemisfério direito em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave

Estrutura	Grupo		Diferença estimada entre os grupos SPI-mg e Controle (IC 95%)	Valor-p
	Controle	SPI-mg		
	Média estimada (IC 95%)	Média estimada (IC 95%)		
Tálamo				
Sexo feminino	7084,339 (6881,35 - 7293,32)	7202,633 (6968,6 - 7444,53)	-118,294 (-538,47 - 301,88)	>0,999

continua...

...continuação

Sexo masculino	7202,633 (6968,6 - 7444,53)	7416,466 (7031,57 - 7822,43)	-121,806 (-553,64 - 310,03)	>0,999
Caudado				
Sexo feminino	3323,927 (3157,65 - 3498,95)	3452,239 (3257,24 - 3658,91)	-128,313 (-480,2 - 223,57)	>0,999
Sexo masculino	3452,239 (3257,24 - 3658,91)	3662,356 (3333,65 - 4023,47)	-136,122 (-508,09 - 235,85)	>0,999
Putâmen				
Sexo feminino	4670,801 (4523,8 - 4822,58)	4794,093 (4621,56 - 4973,07)	-123,290 (-432,48 - 185,89)	>0,999
Sexo masculino	4794,093 (4621,56 - 4973,07)	4958,331 (4677,67 - 5255,83)	-127,520 (-446,22 - 191,19)	>0,999
Pálido				
Sexo feminino	1526,575 (1452,81 - 1604,09)	1524,279 (1440,16 - 1613,31)	2,296 (-152,23 - 156,82)	>0,999
Sexo masculino	1524,279 (1440,16 - 1613,31)	1676,309 (1532,17 - 1834,01)	2,526 (-167,44 - 172,49)	>0,999

N=26 no grupo Controle e n=22 no grupo SPI-mg; SPI-mg: portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave; IC 95%: Intervalo de 95% de confiança; P: Valor-p para a comparação entre os grupos Controle e SPI-mg, após correção pelo método de Bonferroni.

Tabela 16. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de espessura (micrômetros) no hemisfério esquerdo em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave

Área	Grupo		Diferença estimada entre os grupos SPI-mg e Controle (IC 95%)	Valor-p
	Controle Média estimada (IC 95%)	SPI-mg Média estimada (IC 95%)		
Paracentral				
Sexo feminino	2419,931 (2365,21 - 2475,91)	2422,402 (2360,25 - 2486,19)	-2,470 (-114,48 - 109,54)	>0,999
Sexo masculino	2422,402 (2360,25 - 2486,19)	2387,832 (2289,9 - 2489,96)	-2,440 (-112,84 - 107,96)	>0,999
Pós-central				
Sexo feminino	2094,836 (2049,12 - 2141,57)	2039,608 (1989,24 - 2091,25)	55,230 (-36,67 - 147,12)	0,677
Sexo masculino	2039,608 (1989,24 - 2091,25)	1981,778 (1903,24 - 2063,56)	53,660 (-35,94 - 143,26)	0,685
Pré-central				
Sexo feminino	2511,983 (2459,31 - 2565,78)	2546,043 (2485,65 - 2607,9)	-34,060 (-142,2 - 74,08)	>0,999
Sexo masculino	2546,043 (2485,65 - 2607,9)	2474,002 (2379,7 - 2572,04)	-33,100 (-138,03 - 71,83)	>0,999
BA1				
Sexo feminino	2195,083 (2116,34 - 2276,75)	2175,411 (2087,29 - 2267,25)	19,670 (-140,96 - 180,3)	>0,999
Sexo masculino	2175,411 (2087,29 - 2267,25)	2030,985 (1899,09 - 2172,04)	18,370 (-131,76 - 168,49)	>0,999
BA2				
Sexo feminino	2275,240 (2222,28 - 2329,46)	2183,630 (2126,05 - 2242,77)	91,610 (-14,2 - 197,42)	0,134
Sexo masculino	2183,630 (2126,05 - 2242,77)	2198,221 (2105,56 - 2294,96)	92,220 (-14,91 - 199,35)	0,139

continua...

...continuação

BA3a				
Sexo feminino	1714,981 (1664,46 - 1767,04)	1706,134 (1649,35 - 1764,88)	8,850 (-94,19 - 111,88)	>0,999
Sexo masculino	1706,134 (1649,35 - 1764,88)	1674,502 (1585,34 - 1768,68)	8,680 (-92,5 - 109,87)	>0,999
BA3b				
Sexo feminino	1843,152 (1807 - 1880,03)	1809,958 (1769,84 - 1850,98)	33,190 (-39,82 - 106,21)	>0,999
Sexo masculino	1809,958 (1769,84 - 1850,98)	1750,243 (1687,88 - 1814,91)	32,100 (-38,66 - 102,86)	>0,999
BA4a				
Sexo feminino	2529,705 (2453,54 - 2608,23)	2627,796 (2538,26 - 2720,49)	-98,090 (-257,56 - 61,38)	0,628
Sexo masculino	2627,796 (2538,26 - 2720,49)	2488,962 (2353,21 - 2632,55)	-92,910 (-243,4 - 57,58)	0,620
BA4p				
Sexo feminino	2339,570 (2249,71 - 2433,02)	2397,192 (2293,83 - 2505,21)	-57,620 (-244,34 - 129,09)	>0,999
Sexo masculino	2397,192 (2293,83 - 2505,21)	2293,128 (2134,46 - 2463,59)	-55,120 (-233,37 - 123,13)	>0,999

N=26 no grupo Controle e n=22 no grupo SPI-mg; SPI-mg: portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave; IC 95%: Intervalo de 95% de confiança; P: Valor-p para a comparação entre os grupos Controle e SPI-mg, após correção pelo método de Bonferroni. BA1: área de Brodmann 1; BA2: área de Brodmann 2; BA3a: área de Brodmann 3a; BA3b: área de Brodmann 3b; BA4a: área de Brodmann 4a; BA4p: área de Brodmann 4p.

Tabela 17. Médias estimadas e intervalos de confiança de 95% para a medida de volume de estruturas subcorticais (micrômetros cúbicos) no hemisfério esquerdo em controles e portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave

Estrutura	Grupo		Diferença estimada entre os grupos SPI-mg e Controle (IC 95%)	Valor-p
	Controle	SPI-mg		
	Média estimada (IC 95%)	Média estimada (IC 95%)		
Tálamo				
Sexo feminino	6964,152 (6737 - 7198,96)	6748,527 (6498,46 - 7008,22)	215,630 (-244,98 - 676,23)	>0,999
Sexo masculino	6748,527 (6498,46 - 7008,22)	7069,159 (6653,91 - 7510,32)	225,870 (-258,78 - 710,52)	>0,999
Caudado				
Sexo feminino	3429,653 (3278,51 - 3587,76)	3581,913 (3403,68 - 3769,48)	-152,260 (-473,29 - 168,77)	>0,999
Sexo masculino	3581,913 (3403,68 - 3769,48)	3702,846 (3410,57 - 4020,17)	-157,401 (-488 - 173,2)	>0,999
Putâmen				
Sexo feminino	4802,744 (4649,36 - 4961,19)	4906,686 (4728,83 - 5091,23)	-103,942 (-424,26 - 216,38)	>0,999
Sexo masculino	4906,686 (4728,83 - 5091,23)	5114,165 (4819,89 - 5426,4)	-108,337 (-441,41 - 224,73)	>0,999
Pálido				
Sexo feminino	1650,159 (1581,12 - 1722,21)	1741,842 (1659,17 - 1828,63)	-91,683 (-239,18 - 55,81)	0,606
Sexo masculino	1741,842 (1659,17 - 1828,63)	1850,479 (1711,15 - 2001,15)	-97,401 (-253,29 - 58,48)	0,596

N=26 no grupo Controle e n=22 no grupo SPI-mg; SPI-mg: portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave; IC 95%: Intervalo de 95% de confiança; P: Valor-p para a comparação entre os grupos Controle e SPI grave e muito grave, após correção pelo método de Bonferroni.

5 DISCUSSÃO

O principal resultado desse estudo foi a diferença obtida quanto ao desfecho primário, entre os grupos de indivíduos com SPI e o grupo controle. Foi encontrada uma redução estatisticamente significativa na inibição intracortical em ambos os grupos de indivíduos com SPI (SPI-lm e SPI-mg) em comparação ao grupo controle. Até o momento, este é o estudo de EMT que incluiu o maior número de portadores de SPI e controles. Esses resultados contrastam com nossa hipótese de que somente o grupo SPI-mg apresentaria uma redução na inibição intracortical e sugerem que a anormalidade na excitabilidade cortical está presente mesmo em estágio iniciais e menos sintomáticos da doença.

A seleção de indivíduos por neurologista especialista em medicina do sono, o uso dos critérios estabelecidos pelo IRLSSG e a análise dos parâmetros de EMT encoberta quanto ao escore de gravidade dos sintomas de SPI foram pontos fortes do estudo.

5.1 Inibição intracortical

Nossos resultados de inibição intracortical também estão alinhados com os resultados de estudos prévios que avaliaram amostras menores.^(104,106,114–117,124,125,195) Entretanto, os resultados permitem avançar no conhecimento indicando que a inibição intracortical está alterada mesmo em estágios mais leves da SPI de acordo com a gravidade dos sintomas na doença medida pela escala IRLSS.

Estudos anteriores relatando alterações na inibição intracortical não analisaram a relação entre esta medida e a gravidade dos sintomas usando a IRLSS. Alguns estudos descreveram a gravidade dos sintomas na amostra de portadores de SPI com a IRLSS, porém não avaliaram se havia diferenças de inibição intracortical de acordo com a gravidade.^(104,115,124,127) Outros estudos não descreveram parâmetros de gravidade na população estudada.^(106,116,117,125)

O primeiro estudo na área relatou uma medida de gravidade definida pelos autores como a presença de sintomas na tarde do experimento. É interessante notar que esse parâmetro teve relação com a redução da inibição intracortical medida no adutor do dedo mínimo e no abductor do hálux.⁽¹¹⁴⁾ Em nosso estudo, encontramos

uma tendência à diminuição da inibição intracortical em portadores de SPI com relato de desconforto antes ou após a sessão de EMT. Apesar da escala visual analógica para desconforto não estar validada para sintomas de SPI, usamos o critério de ter ou não sintomas na ocasião da realização do protocolo de EMT e não sua graduação para esta análise. A associação da presença de sintomas na ocasião da sessão de EMT já foi relatada como fator de aumento da excitabilidade cortical medida pela inibição intracortical em estudos anteriores⁽¹¹⁴⁾ e não foi abordada em outros trabalhos. O aumento da excitabilidade cortical pode decorrer de uma pré-ativação motora através de vias sensitivas envolvidas na SPI, visto que a redução da inibição intracortical foi descrito na vigência de estímulos sensitivos periféricos em indivíduos saudáveis.⁽¹⁹⁶⁾ Entretanto, a associação entre a presença de sintomas no momento da sessão de EMT e a redução da inibição intracortical necessita de estudos com maiores amostras e instrumentos validados de avaliação.

A análise por curva ROC de nossa amostra mostrou uma capacidade de discernir entre os grupos SPI-tot e controles quando valores de inibição intracortical estivessem acima de 31,5%, com uma sensibilidade moderada e alta especificidade e área sob a curva de 0,78. Esse parâmetro poderia ser utilizado, assim, para corroborar o diagnóstico em casos duvidosos. Além disso, estudos futuros devem avaliar se a redução da inibição intracortical pode ser um marcador de resposta ao tratamento.

A inibição intracortical reflete atividade de receptores GABAA.^(92,94) Mudanças na inibição intracortical podem ser relacionadas a disfunção de mecanismos gabaérgicos mediados indiretamente pelo sistema dopaminérgico. Existe também a possibilidade de uma modulação direta do sistema gabaérgico por projeções dopaminérgicas. Estudos de microscopia eletrônica demonstraram a presença de terminais dopaminérgicos em interneurônios gabaérgicos próximos a neurônios piramidais.⁽¹³⁴⁾ Estas células têm tanto papel modulador inibitório quanto facilitador sobre diferentes interneurônios corticais.^(197,198) A dopamina parece aumentar a inibição de neurônios piramidais via neurônios peridentrícos envolvidos na modulação de sinapses excitatórias e que aumentam a eficácia de neurônios inibitórios perissomáticos e, assim, impediriam a gênese de potenciais de ação.⁽¹⁹⁷⁾

Em indivíduos saudáveis, agonistas dopaminérgicos aumentam a inibição intracortical, enquanto antagonistas dopaminérgicos a reduzem.⁽¹⁰⁸⁾ A redução na inibição intracortical não é específica da SPI, ocorrendo também em outras doenças

como doença de Parkinson, distonia focal da mão, epilepsia mioclônica juvenil, ataxias espinocerebelares e doenças do neurônio motor.^(87,199,200)

A disfunção dopaminérgica também é um pilar na fisiopatologia da doença de Parkinson e nas outras doenças citadas há mecanismos de neurodegeneração cortical e subcortical ou alterações plásticas em áreas motoras que podem ser responsáveis pela alteração na inibição intracortical. Na doença de Parkinson ocorre uma diminuição do tônus dopaminérgico devido a degeneração de neurônios da substância *nigra* produtores de dopamina. O acometimento de vias nigroestriatais leva a um aumento da modulação inibitória dos gânglios da base sobre vias motoras, ocasionado a hipocinesia marcante da doença.⁽²⁰¹⁾ A redução da inibição intracortical em portadores da doença de Parkinson pode decorrer de mecanismos complexos envolvendo modulação motora subcortical (indireta) e cortical (direta) decorrente do baixo tônus de dopamina, visto que além da patologia de gânglios da base já relatada, também há uma diminuição de terminais dopaminérgicos inibitórios no córtex motor envolvido na doença.⁽²⁰²⁾

Na SPI, existe um déficit dopaminérgico relativo noturno devido à flutuação circadiana da dopamina, o que levaria à presença dos sintomas.⁽²⁰³⁾ A cronificação do fenômeno poderia levar a uma redução na inibição intracortical sustentada durante todo o dia. O fato de haver uma redução na inibição intracortical em portadores de SPI pode auxiliar no diagnóstico e refinar hipóteses fisiopatológicas envolvendo mecanismos associados que levam a hiperexcitabilidade relacionados a receptores GABAA corticais. Entretanto, a hiperexcitabilidade do sistema nervoso em portadores de SPI pode não estar restrita ao córtex cerebral. Estudos demonstram que os movimentos periódicos dos membros associados a SPI estão relacionados a um aumento da excitabilidade da medula espinhal em vigília e durante o sono.⁽²⁰⁴⁾ É possível que esta hiperexcitabilidade seja decorrente de uma perda da inibição supraespinhal sobre núcleos motores medulares geradores de movimentos periódicos devido um efeito mais amplo da disfunção dopaminérgica em portadores de SPI sobre mecanismos de integração entre córtex, regiões subcorticais e medula espinhal.

A influência da insônia em portadores de SPI também já foi colocada como possível promotora de redução da inibição intracortical.^(127,195) Portadores de insônia primária crônica, assim como portadores de SPI com insônia comórbida, cursam com privação parcial de sono persistente. Já foi demonstrado que privação parcial e fragmentação do sono podem levar à redução da inibição intracortical.⁽¹⁹⁵⁾ Em

nosso estudo, a comparação da inibição intracortical entre os voluntários, controles e portadores de SPI, que não relatavam insônia mostrou diferença semelhante à encontrada quando incluídos todos os voluntários do estudo. Portanto, a hipótese da redução da inibição intracortical nos portadores de SPI ser decorrente da associação de insônia é improvável.

Correlações entre inibição intracortical e gravidade têm sido relatados em outras doenças que envolvem o córtex motor de alguma maneira. Na esclerose lateral amiotrófica, a redução na inibição intracortical correlaciona-se com a gravidade.⁽²⁰⁵⁾ Na ataxia espinocerebelar tipo 3, na qual o envolvimento do córtex motor também ocorre, a redução na inibição intracortical progride com o avançar de fases pré-sintomáticas para avançadas da doença.^(206,207) Em ambas as condições, estudos de morfometria mostram redução ou afilamento de substância cinzenta em giro pré-central, área motora suplementar, tálamos e cerebelo.⁽²⁰⁷⁻²⁰⁹⁾ Um possível mecanismo para a redução da inibição intracortical nessa doenças é a perda de neurônios inibitórios corticais, como sugerido por estudos neuropatológicos que revelaram a perda de interneurônios corticais inibitórios gabaérgicos parvalbumina-positivos em pacientes com doença do neurônio motor.^(210,211)

5.2 Outros desfechos de estimulação magnética transcraniana

Não foram encontradas diferenças entre os grupos controle e SPI-lm e SPI-mg nos parâmetros de limiar motor em repouso, limiar motor em atividade e período silente cortical. A ausência de diferenças entre os grupos quanto aos limiares motor em repouso e em ação, reforçam os resultados obtidos em estudos prévios em portadores de SPI.^(24,114,116,117,125,195) A única exceção é um estudo que relatou uma redução no limiar motor em atividade no período da noite em portadores de SPI, indicando que pode haver uma influência circadiana nas medidas de excitabilidade, o que não foi avaliado em nosso estudo. Estes resultados sugerem que não há envolvimento de hiperexcitabilidade de membrana neuronal no córtex motor e na medula espinhal, assim como não há pré-ativação de neurônios espinhais por projeções corticoespinhais na fisiopatologia da SPI.^(84,212) Reduções nos limiares motores poderiam refletir um aumento da excitabilidade mediada por canais iônicos da membrana neuronal, que são, por exemplo, detectadas em portadores de epilepsia

virgens de tratamento.⁽²¹³⁾ Aumentos no limiar motor em repouso e atividade ocorrem em portadores de epilepsia de longa data em tratamento medicamentoso, principalmente nos pacientes com controle inadequado de crises.⁽²¹⁴⁾ As alterações de canais iônicos semelhantes às encontradas em portadores de epilepsias não são consideradas relevantes, até o momento, na fisiopatologia da SPI.

Além disso, a ausência de alterações na duração do período silente cortical entre os grupos também são congruentes com outros estudos entre portadores de SPI primária e controles, estudando músculos das mãos,^(24,115,127) dentre eles o adutor do dedo mínimo.^(114,116,120,121) Outros trabalhos descreveram uma redução da duração do período silente cortical tanto em pacientes virgens de tratamento, quanto em pacientes sem uso recente de medicação para SPI.^(106,117–119) Entretanto, nenhuma correlação foi encontrada entre a duração do período silente cortical e a gravidade dos sintomas de SPI.⁽¹²²⁾

Em resumo, assim como no presente trabalho, 7 de 11 estudos que avaliaram potenciais evocados motores em músculos da mão (abdutor curto do polegar, adutor do dedo mínimo ou primeiro interósseo dorsal) tanto com bobinas em 8^(114–116,127) quanto circulares^(24,120,121) não mostraram diferenças na duração do período silente cortical entre portadores de SPI e controles.

O período silente cortical é um parâmetro neurofisiológico modulado pela atividade de receptores GABAB. Os nossos resultados, portanto, não sugerem uma disfunção neste sistema em portadores de SPI. Em outras patologias que envolvem sistemas dopaminérgicos como na doença de Parkinson foi descrito uma redução na duração do período silente cortical,⁽²¹⁵⁾ sugerindo envolvimento de receptores GABAB. Entretanto nesta condição, diferentemente da SPI, há um componente de neurodegeneração subcortical e cortical que pode ser responsável por esta diferença nos resultados.^(201,202)

Por outro lado, quatro estudos que utilizaram o músculo tibial anterior como alvo, com bobina circular, descreveram reduções no período silente cortical nos portadores de SPI em relação a controles.^(118–120,122) O tempo de retirada de mediações antes da EMT nesses estudos variou de 48 horas a 4 semanas. Em um dos estudos em que não houve diferenças, os indivíduos portadores de SPI eram virgens de tratamento⁽¹¹⁶⁾ e, em outro, foram estudados apenas 6 voluntários por grupo.⁽¹²¹⁾

Em nossa amostra apenas 27% (10/37) dos portadores de SPI tinham histórico de sintomas em membros superiores. É possível que a intensidade e a

topografia dos sintomas possam influenciar no parâmetro de período silente cortical e explicar as discrepâncias entre os estudos. Considerando o envolvimento mais proeminente de membros inferiores nos portadores de SPI e baixa frequência de sintomas em membros superiores, nós especulamos que os músculos das pernas possam ser um alvo mais sensível para a detecção de redução de período silente cortical.

A variabilidade de duração do período silente cortical foi grande em nosso estudo, o que também se observou em outros trabalhos.^(216–218) O período silente cortical é em geral registrado após a administração de um estímulo supralimiar baseado na medida do limiar motor em repouso ou, como em nosso estudo, do limiar motor em atividade.⁽¹⁰⁸⁾ Estes parâmetros podem não ser os ideais para definir a intensidade de estímulo no período silente cortical.⁽²¹⁹⁾ Nesse sentido, estudos recentes têm utilizado um padrão individualizados de curvas de limiar de período silente cortical, que podem compensar os altos níveis de variabilidade interindividual da duração do período silente cortical.⁽²¹⁹⁾ Ainda não há estudos aplicando essa técnica em portadores de SPI.

5.3 Análise morfoétrica de ressonância magnética de encéfalo

Em SPI, não foram encontradas alterações da espessura cortical nas áreas motora e somatossensorial primárias e do volume de substância cinzenta em caudados, globos pálidos, putâmens e tálamos bilateralmente usando método de processamento por análise de superfície.

Em algumas doenças neurodegenerativas como a ataxia espinocerebelar tipo 3 e a esclerose lateral amiotrófica são relatadas reduções da espessura cortical em áreas motoras. Em ambas as condições, também é descrito uma redução da inibição intracortical, sendo que é possível que este dado decorra do processo degenerativo que envolve tanto neurônios piramidais, quanto interneurônios GABAérgicos corticais.^(210,211) Em nosso estudo, não encontramos evidências de acometimento quantitativo de substância cinzenta em portadores de SPI, o que indica que a redução da inibição intracortical nestes pacientes não seja relacionada aos mesmos mecanismos da ataxia espinocerebelar tipo 3 e da esclerose lateral amiotrófica (degeneração motora cortical). A hiperexcitabilidade cortical motora na SPI

avaliada pela inibição intracortical pode estar relacionada a disfunção gabaérgica mediada indiretamente pelo desequilíbrio de mecanismos dopaminérgicos previamente relatada na doença.^(4,203,220)

A ausência de alterações na espessura cortical em portadores de SPI em áreas motoras e sensitivas primárias sugere que o envolvimento cortical na SPI não esteja relacionado a um comprometimento estrutural da substância cinzenta cortical. Apesar de outros estudos com morfometria baseada em voxels (3/9)^(31,150,157) terem apresentados resultados diferentes dos nossos, em sua maioria (6/9)^(151–156) os estudos em SPI não mostraram alterações estruturais relevantes nessa população.

Uma limitação dos estudos que encontraram diferenças morfométricas corticais entre indivíduos com SPI e controles é a falta de correções da análise estatística para comparações múltiplas, aumentando a chance de erros alfa. O rigor estatístico em aplicar correções múltiplas em estudos morfométricos por morfometria baseada em voxels é recomendado pelos desenvolvedores do método.⁽²⁷⁾ Na análise por *FreeSurfer* também é recomendado aplicar tais correções.⁽²⁶⁾ Apenas um dentre os estudos que encontraram diferenças morfométricas corticais efetuou tais correções⁽³¹⁾ e mostrou aumento discreto de substância cinzenta no hipocampo esquerdo e no giro orbito-frontal médio. Nesse estudo foram incluídos apenas portadores de SPI virgens de tratamento ou minimamente expostos a medicação (curso de levodopa por poucas semanas e há pelo menos 4 meses sem medicação) com formas graves da doença quantificada pela escala de gravidade de sintomas em SPI. Os exames desse protocolo foram realizados em aparelho com campo magnético de 1,5 Tesla e analisados com software SPM2. Estudos mais recentes com versões mais atuais desse *software* não demonstraram alterações significantes quando corrigidos para comparações múltiplas.^(153,155–157)

Os resultados também podem ter sido influenciados por uma dificuldade peculiar da morfometria baseada em voxels em segmentar áreas fronto-basais e pelo uso de aparelho de 1,5 Tesla. Com a melhora dos contrastes adquiridos em um aparelho de 3,0 Tesla, os pontos de controle provavelmente tiveram melhor acurácia na correção topológica do que nos aparelhos de 1,5 Tesla.⁽²²¹⁾ Medidas de espessura cortical são altamente confiáveis e imagens de aparelhos de RM 3,0 Tesla reduzem significativamente a variabilidade de medidas derivadas de um mesmo *scanner*.^(222,223)

A exposição prévia a agonistas dopaminérgicos também pode ter sido um fator influenciador nos resultados, visto que em roedores expostos a uso de agentes dopaminérgicos⁽²²⁴⁾ e em estudos de morfometria baseada em voxels com exposição aguda a levodopa⁽²²⁵⁾ podem ocorrer alterações estruturais sutis detectados por análise de morfometria baseada em voxels em *clusters* anatômicos da substância negra, área tegmentar ventral e núcleo subtalâmico bilateral. Além disso, o modelo de análise de dados desse estudo não incluiu a variável do volume total intracraniano, o que tem sido recomendado em estudos de morfometria baseada em voxels para evitar inconsistências que podem refletir variabilidade de conformação da cabeça entre os indivíduos.⁽²²⁶⁾

Em nosso estudo, realizamos a suspensão de medicações usadas para o tratamento da SPI pelo menos uma semana antes da avaliação por RM de crânio. As análises de estruturas subcorticais foram controladas para o volume intracraniano total e também foi realizada análise em separada post-hoc comparando os portadores de SPI virgens de tratamento e controles do nosso estudo, na qual não detectamos diferenças significativas em regiões de interesse corticais e subcorticais.

Portanto, variação metodológica, seleção de pacientes e histórico de exposição medicamentosa podem ser responsáveis pelos resultados conflitantes descritos na literatura.

Pela primeira vez um estudo morfométrico usando técnica de análise de superfície com *FreeSurfer* em RM 3,0 Tesla foi realizado em portadores de SPI. Nossos resultados da análise de superfície cortical são coerentes com as observações de cérebros de portadores de SPI *post-mortem* que macroscopicamente não apresentam alterações estruturais corticais.⁽⁸³⁾ Portanto, os resultados não sugerem uma perda neuronal como mecanismo associado na SPI. Entretanto, alterações na substância branca não foram avaliadas pelas técnicas implementadas nesse estudo e este tema pode ser relevante na fisiopatologia da doença.^(156,227,228) Dados de imagens de DTI coletados nesta pesquisa serão analisados *a posteriori* e poderão trazer mais respostas quanto a presença e natureza de alterações de substância branca cerebral em portadores de SPI.

5.4 Limitações

O presente estudo tem algumas limitações. Polissonografia de noite inteira (PSG), monitorização de EMT em um músculo da perna e experimentos no período noturno não foram realizados. Entretanto, o critério diagnóstico⁽¹⁾ para SPI não requer a realização de PSG, exceto na suspeita de causas secundárias ou comorbidades do sono, que foram critérios de exclusão neste trabalho. Estudos prévios de excitabilidade motora cortical realizados em músculos do membros superiores e/ou membros inferiores encontraram redução da inibição intracortical em ambos^(114,116) ou predominantemente em membros superiores,^(104,106,115,117,124,125,127) por isso nossa escolha pelo músculo tecnicamente acessível adutor do dedo mínimo. Outro aspecto digno de nota é que tempo de retirada da medicação para o tratamento de SPI (1 semana) antes dos experimentos pode não ser suficiente para reorganizar alterações plásticas neuronais determinadas pelo uso de agonistas dopaminérgicos. Apesar disso, neste estudo não foram observadas diferenças entre os resultados morfométricas ou de excitabilidade cortical entre pacientes que usavam e não usavam medicação previamente.

No que tange aos resultados da análise de superfície cortical com o *software FreeSurfer*, o poder foi limitado para a análise de estruturas subcorticais e amostras maiores são necessárias para melhor definição quanto a alterações estruturais nessas áreas.

6 CONCLUSÕES

1. Foi encontrada uma redução significativa na inibição intracortical no grupo de portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave e portadores de síndrome das pernas inquietas leve e moderada em comparação com controles saudáveis, mas não entre os grupos de portadores de síndrome das pernas inquietas leve e moderada e síndrome das pernas inquietas grave e muito grave.

2. Não foram encontradas diferenças na duração do período silente cortical entre portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave, síndrome das pernas inquietas leve e moderada e controles.

3. Não foram encontradas diferenças nos limiares motor em repouso e em atividade entre portadores de síndrome das pernas inquietas grave e muito grave, síndrome das pernas inquietas leve e moderada e controles.

4. Não foram encontradas diferenças de espessura cortical entre portadores de síndrome das pernas inquietas e controles em regiões motora e somatossensorial primárias, assim como em análise de volume dos caudados, globos pálidos, putâmens e tálamos bilateralmente.

7 REFERÊNCIAS

1. Allen RP, Picchietti DL, Garcia-Borreguero D, Ondo WG, Walters AS, Winkelman JW, Zucconi M, Ferri R, Trenkwalder C, Lee HB; International Restless Legs Syndrome Study Group. Restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease diagnostic criteria: updated International Restless Legs Syndrome Study Group (IRLSSG) consensus criteria - history, rationale, description, and significance. *Sleep Med.* 2014;15(8):860–73.
2. Eckeli AL, Gitaí LL, Dach F, Ceretta H, Sander HH, Passos AD, et al. Prevalence of restless legs syndrome in the rural town of Cassia dos Coqueiros in Brazil. *Sleep Med.* 2011;12(8):762–7.
3. Ohayon MM, O'Hara R, Vitiello MV. Epidemiology of restless legs syndrome: a synthesis of the literature. *Sleep Med Rev.* 2012;16(4):283–95.
4. Earley CJ, Hyland K, Allen RP. CSF dopamine, serotonin, and biopterin metabolites in patients with restless legs syndrome. *Mov Disord.* 2001;16(1):144–9.
5. Paulus W, Trenkwalder C. Less is more: pathophysiology of dopaminergic-therapy-related augmentation in restless legs syndrome. *Lancet Neurol.* 2006;5(10):878–86.
6. Allen RP. Restless leg syndrome/Willis-Ekbom disease pathophysiology. *Sleep Med Clin.* 2015;10(3):207–14.
7. Garcia-Borreguero D, Silber MH, Winkelman JW, Högl B, Bainbridge J, Buchfuhrer M, et al. Guidelines for the first-line treatment of restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease, prevention and treatment of dopaminergic augmentation: a combined task force of the IRLSSG, EURLSSG, and the RLS-foundation. *Sleep Med.* 2016;21:1–11.
8. Magalhães SC, Kaelin-Lang A, Sterr A, do Prado GF, Eckeli AL, Conforto AB. Transcranial magnetic stimulation for evaluation of motor cortical excitability in restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease. *Sleep Med.* 2015;16(10):1265–73.
9. Rizzo G, Li X, Galantucci S, Filippi M, Cho YW. Brain imaging and networks in restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2017;31:39–48.
10. Scalise A. Patho-physiology of restless legs syndrome: a very tedious puzzle! *Sleep Med.* 2009;10(10):1073–4.
11. Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of the human motor cortex. *Lancet.* 1985;1(8437):1106–7.
12. Cohen LG, Ziemann U, Chen R, Classen J, Hallett M, Gerloff C, et al. Studies of neuroplasticity with transcranial magnetic stimulation. *J Clin Neurophysiol.* 1998;15(4):305–24.
13. Conforto A, Marie S, Cohen L, Scaff M. [Transcranial magnetic stimulation]. *Arq Neuropsiquiatr.* 2003;61(1):146–52. Portuguese.
14. Hallett M. Transcranial magnetic stimulation and the human brain. *Nature.* 2000;406(6792):147–50.
15. Wassermann EM, Lisanby SH. Therapeutic application of repetitive transcranial magnetic stimulation: a review. *Clin Neurophysiol.* 2001;112(8):1367–77.

16. Ziemann U. Intracortical inhibition and facilitation in the conventional paired TMS paradigm. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl.* 1999;51:127–36.
17. Conforto AB, Z'Graggen WJ, Kohl AS, Rösler KM, Kaelin-Lang A. Impact of coil position and electrophysiological monitoring on determination of motor thresholds to transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol.* 2004;115(4):812–9.
18. Siebner H, Rothwell J. Transcranial magnetic stimulation: new insights into representational cortical plasticity. *Exp Brain Res.* 2003;148(1):1–16.
19. Walsh V, Cowey A. Transcranial magnetic stimulation and cognitive neuroscience. *Nat Rev Neurosci.* 2000;1(1):73–9.
20. Cantello R, Gianelli M, Civardi C, Mutani R. Magnetic brain stimulation: the silent period after the motor evoked potential. *Neurology.* 1992;42(10):1951–9.
21. Chen R, Lozano AM, Ashby P. Mechanism of the silent period following transcranial magnetic stimulation. Evidence from epidural recordings. *Exp Brain Res.* 1999;128(4):539–42.
22. Chen R. Interactions between inhibitory and excitatory circuits in the human motor cortex. *Exp brain Res.* 2004;154(1):1–10.
23. Boroojerdi B, Kopylev L, Battaglia F, Facchini S, Ziemann U, Muellbacher W, et al. Inhibition and facilitation using the paired-pulse paradigm. *Muscle Nerve.* 2000;23(10):1594–7.
24. Gündüz A, Adatepe NU, Kiziltan ME, Karadeniz D, Uysal O. Circadian changes in cortical excitability in restless legs syndrome. *J Neurol Sci.* 2012;316(1-2):122–5.
25. Lehmann M, Crutch SJ, Ridgway GR, Ridha BH, Barnes J, Warrington EK, et al. Cortical thickness and voxel-based morphometry in posterior cortical atrophy and typical Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2011;32(8):1466–76.
26. Fischl B. FreeSurfer. *Neuroimage.* 2012;62(2):774–81.
27. Ashburner J, Friston KJ. Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage.* 2000;11(6 Pt 1):805–21.
28. Friston K, Ashburner J, Frith C, Poline JB, Heather J, Frackowiak R. Spatial registration and normalization of images. *Hum Brain Mapp.* 1995;3(3):165–89.
29. Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical surface-based analysis. I. segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage.* 1999;9(2):179–94.
30. Martin P, Bender B, Focke NK. Post-processing of structural MRI for individualized diagnostics. *Quant Imaging Med Surg.* 2015;5(2):188–203.
31. Hornyak M, Ahrendts JC, Spiegelhalder K, Riemann D, Voderholzer U, Feige B, et al. Voxel-based morphometry in unmedicated patients with restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2007;9(1):22–6.
32. Desikan RS, Ségonne F, Fischl B, Quinn BT, Dickerson BC, Blacker D, et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage.* 2006;31(3):968–80.

33. Ekblom KA. Restless legs: a clinical study. *Acta Med Scand.* 1945;1-123(Suppl 158):1-123.
34. Rothdach AJ, Trenkwalder C, Haberstock J, Keil U, Berger K. Prevalence and risk factors of RLS in an elderly population: the MEMO study. *Memory and morbidity in Augsburg elderly. Neurology.* 2000;54(5):1064–8.
35. Allen RP, Picchiatti D, Hening WA, Trenkwalder C, Walters AS, Montplaisir J; Restless Legs Syndrome Diagnosis and Epidemiology workshop at the National Institutes of Health; International Restless Legs Syndrome Study Group. Restless legs syndrome: diagnostic criteria, special considerations, and epidemiology. A report from the restless legs syndrome diagnosis and epidemiology workshop at the National Institutes of Health. *Sleep Med.* 2003;4(2):101–19.
36. Walters AS, Hickey K, Maltzman J, Verrico T, Joseph D, Hening W, et al. A questionnaire study of 138 patients with restless legs syndrome: the “Night-Walkers” survey. *Neurology.* 1996;46(1):92–5.
37. Masuko AH, Prado LB, Prado GF. Síndrome das pernas inquietas. *Neurociências.* 2004;12(1):18–20.
38. Yang Q, Li L, Chen Q, Foldvary-Schaefer N, Ondo WG, Wang QK. Association studies of variants in MEIS1, BTBD9, and MAP2K5/SKOR1 with restless legs syndrome in a US population. *Sleep Med.* 2011;12(8):800–4.
39. Trenkwalder C, Högl B, Winkelmann J. Recent advances in the diagnosis, genetics and treatment of restless legs syndrome. *J Neurol.* 2009;256(4):539–53.
40. Bakshi R. Fluoxetine and restless legs syndrome. *J Neurol Sci.* 1996;142(1-2):151–2.
41. Garvey MJ, Tollefson GD. Occurrence of myoclonus in patients treated with cyclic antidepressants. *Arch Gen Psychiatry.* 1987;44(3):269–72.
42. Ward NG. Akathisia associated with droperidol during epidural anesthesia. *Anesthesiol.* 1989;71(5):786–7.
43. Terao T, Terao M, Yoshimura R, Abe K. Restless legs syndrome induced by lithium. *Biol Psychiatry.* 1991;30(11):1167–70.
44. Lutz EG. Restless legs, anxiety and caffeinism. *J Clin Psychiatry.* 1978;39(9):693–8.
45. Lugaresi E, Tassinari C, Coccagna G, Ambrosetto C. Particularities cliniques et polygraphiques du syndrome d’impatience des membres inferieurs. *Rev Neurol (Paris).* 1965;113:545–55.
46. Saletu M, Anderer P, Saletu-Zyhlarz G, Prause W, Semler B, Zoghalmi A, et al. Restless legs syndrome (RLS) and periodic limb movements disorder (PLMD): acute placebo-controlled sleep laboratory studies with clonazepam. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2001;11(2):153–61.
47. Michaud M, Poirier G, Lavigne G, Montplaisir J. Restless legs syndrome: scoring criteria for leg movements recorded during the suggested immobilization test. *Sleep Med.* 2001;2(4):317–21.
48. Montplaisir J, Boucher S, Nicolas A, Lesperance P, Gosselin A, Rompré P, et al. Immobilization tests and periodic legmovements in sleep for the diagnosis of restless leg syndrome. *Mov Disord.* 1998;13(2):324–9.

49. Ferri R, Rundo F, Zucconi M, Manconi M, Aricò D, Bruni O, et al. Diagnostic accuracy of the standard and alternative periodic leg movement during sleep indices for restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2016;22:97-9
50. Walters AS, LeBrocq C, Dhar A, Hening W, Rosen R, Allen RP, Trenkwalder C; International Restless Legs Syndrome Study Group. Validation of the International Restless Legs Syndrome Study Group rating scale for restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2003;4(2):121–32.
51. Masuko AH, Carvalho LB, Machado MA, Morais JF, Prado LB, Prado GF. [Translation and validation into the Brazilian Portuguese of the restless legs syndrome rating scale of the International Restless Legs Syndrome Study Group]. *Arq Neuropsiquiatr.* 2008;66(4):1–15. Portuguese.
52. Winkelman JW, Redline S, Baldwin CM, Resnick HE, Newman AB, Gotlib DJ. Polysomnographic and health-related quality of life correlates of restless legs syndrome in the sleep heart health study. *Sleep.* 2009;32(6):772–8.
53. Phillips B, Hening W, Britz P, Mannino D. Prevalence and correlates of restless legs syndrome. Results from the 2005 National Sleep Foundation poll. *Chest.* 2006;129(1):76–80.
54. Abetz L, Allen R, Follet A, Washburn T, Earley C, Kirsch J, et al. Evaluating the quality of life of patients with restless legs syndrome. *Clin Ther.* 2004;26(6):925–35.
55. Kushida C, Martin M, Nikam P, Blaisdell B, Wallenstein G, Ferini-Strambi L, et al. Burden of restless legs syndrome on health-related quality of life. *Qual Life Res.* 2007;16(4):617–24.
56. Cho YW, Kim DH, Allen RP, Earley CJ. Assessing health-related quality of life in patients with restless legs syndrome in Korea: comparison with other chronic medical diseases. *Sleep Med.* 2012;13(9):1158–63.
57. Comella CL. Restless legs syndrome: treatment with dopaminergic agents. *Neurology.* 2002;58(4 Suppl 1):S87-92.
58. Adler CH, Hauser RA, Sethi K, Caviness JN, Marlor L, Anderson WM, et al. Ropinirole for restless legs syndrome a placebo controlled crossover trial. *Neurology.* 2004;62(8):1405–7.
59. Conti CF, de Oliveira MM, Andriolo RB, Saconato H, Atallah AN, Valbuza JS, et al. Levodopa for idiopathic restless legs syndrome: evidence-based review. *Mov Disord.* 2007;22(13):1943–51.
60. Chesson AL, Wise M, Davila D, Johnson S, Littner M, Anderson WM, et al. Practice parameters for the treatment of restless legs syndrome and periodic limb movement disorder. An American Academy of Sleep Medicine Report. Standards of Practice Committee of the American Academy of Sleep Medicine. *Sleep.* 1999;22(7):961-8.
61. Högl B, Garcia-Borreguero D, Trenkwalder C, Ferini-Strambi L, Hening W, Poewe W, et al. Efficacy and augmentation during 6 months of double-blind pramipexole for restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2011;12(4):351–60.
62. Trenkwalder C, Collado Seidel V, Kazenwadel J, Wetter TC, Oertel W, Selzer R, et al. One-year treatment with standard and sustained-release levodopa: appropriate long-term treatment of restless legs syndrome? *Mov Disord.* 2003;18(10):1184–9.

63. Montplaisir J, Lorrain D, Godbout R. Restless legs syndrome and periodic leg movements in sleep: the primary role of dopaminergic mechanism. *Eur Neurol.* 1991;31(1):41–3.
64. Turjanski N, Lees AJ, Brooks DJ. Striatal dopaminergic function in restless legs syndrome: 18F-dopa and 11C-raclopride PET studies. *Neurology.* 1999;52(5):932–7.
65. Ruottinen HM, Partinen M, Hublin C, Bergman J, Haaparanta M, Solin O, et al. An FDOPA PET study in patients with periodic limb movement disorder and restless legs syndrome. *Neurology.* 2000;54(2):502–4.
66. Trenkwalder C, Walters AS, Hening WA, Chokroverty S, Antonini A, Dhawan V, et al. Positron emission tomographic studies in restless legs syndrome. *Mov Disord.* 1999;14(1):141–5.
67. Staedt J, Stoppe G, Kögler A, Riemann H, Hajak G, Munz D, et al. Single photon emission tomography (SPET) imaging of dopamine D2 receptors in the course of dopamine replacement therapy in patients with nocturnal myoclonus syndrome (NMS). *J Neural Transm Gen Sect.* 1995;99(1–3):187–93.
68. Oboshi Y, Ouchi Y, Yagi S, Kono S, Nakai N, Yoshikawa E, et al. In vivo mesolimbic D2/3 receptor binding predicts posttherapeutic clinical responses in restless legs syndrome: a positron emission tomography study. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012;32(4):654–62.
69. Michaud M, Soucy JP, Chabli A, Lavigne G, Montplaisir J. SPECT imaging of striatal pre- and postsynaptic dopaminergic status in restless legs syndrome with periodic leg movements in sleep. *J Neurol.* 2002;249(2):164–70.
70. Cervenka S, Palhagen S, Comley RA, Panagiotidis G, Cselényi Z, Matthews JC, et al. Support for dopaminergic hypoactivity in restless legs syndrome: a PET study on D2-receptor binding. *Brain.* 2006;129(Pt 8):2017–28.
71. Tribl GG, Asenbaum S, Klösch G, Mayer K, Bonelli RM, Auff E, et al. Normal IPT and IBZM SPECT in drug naive and levodopa-treated idiopathic restless legs syndrome. *Neurology.* 2002;59(4):649–50.
72. Allen RP. Controversies and challenges in defining the etiology and pathophysiology of restless legs syndrome. *Am J Med.* 2007;120(1 Suppl 1):S13–21.
73. Earley CJ, Connor JR, Beard JL, Malecki EA, Epstein DK, Allen RP. Abnormalities in CSF concentrations of ferritin and transferrin in restless legs syndrome. *Neurology.* 2000;54(8):1698–700.
74. Earley CJ, Connor JR, Beard JL, Clardy SL, Allen RP. Ferritin levels in the cerebrospinal fluid and restless legs syndrome: effects of different clinical phenotypes. *Sleep.* 2005;28(9):1069–75.
75. Aurora RN, Kristo DA, Bista SR, Rowley JA, Zak RS, Casey KR, Lamm CI, Tracy SL, Rosenberg RS; American Academy of Sleep Medicine. The treatment of restless legs syndrome and periodic limb movement disorder in adults--an update for 2012: practice parameters with an evidence-based systematic review and meta-analyses: an American Academy of Sleep Medicine Clinical Practice Guideline. *Sleep.* 2012;35(8):1039–62.
76. Connor JR, Ponnuru P, Wang XS, Patton SM, Allen RP, Earley CJ. Profile of altered brain iron acquisition in restless legs syndrome. *Brain.* 2011;134(Pt 4):959–68.

77. Connor JR, Wang XS, Allen RP, Beard JL, Wiesinger JA, Felt BT, et al. Altered dopaminergic profile in the putamen and substantia nigra in restless leg syndrome. *Brain*. 2009;132(Pt 9):2403–12.
78. Erikson KM, Jones BC, Hess EJ, Zhang Q, Beard JL. Iron deficiency decreases dopamine D1 and D2 receptors in rat brain. *Pharmacol Biochem Behav*. 2001;69(3–4):409–18.
79. Bianco LE, Unger EL, Earley CJ, Beard JL. Iron deficiency alters the day-night variation in monoamine levels in mice. *Chronobiol Int*. 2009;26(3):447–63.
80. Salas RE, Gamaldo CE, Allen RP. Update in restless legs syndrome. *Curr Opin Neurol*. 2010;23(4):401–6.
81. Ondo WG, He Y, Rajasekaran S, Le WD. Clinical correlates of 6-hydroxydopamine injections into A11 dopaminergic neurons in rats: a possible model for restless legs syndrome. *Mov Disord*. 2000;15(1):154–8.
82. Trenkwalder C, Paulus W. Why do restless legs occur at rest?--pathophysiology of neuronal structures in RLS. *Neurophysiology of RLS (part 2)*. *Clin Neurophysiol*. 2004;115(9):1975–88.
83. Earley CJ, Allen RP, Connor JR, Ferrucci L, Troncoso J. The dopaminergic neurons of the A11 system in RLS autopsy brains appear normal. *Sleep Med*. 2009;10(10):1155–7.
84. Rossini PM, Rossi S. Transcranial magnetic stimulation: diagnostic, therapeutic, and research potential. *Neurology*. 2007;68(7):484–8.
85. Ridding MC, Rothwell JC. Is there a future for therapeutic use of transcranial magnetic stimulation? *Nat Rev Neurosci*. 2007;8:559–67.
86. Kammer T, Beck S, Thielscher A, Laubis-Herrmann U, Topka H. Motor thresholds in humans: a transcranial magnetic stimulation study comparing different pulse waveforms, current directions and stimulator types. *Clin Neurophysiol*. 2001;112(2):250–8.
87. Groppa S, Oliviero A, Eisen A, Quartarone A, Cohen LG, Mall V, et al. A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee. *Clin Neurophysiol*. 2012;123(5):858–82.
88. Magistris MR, Rösler KM, Truffert A, Myers JP. Transcranial stimulation excites virtually all motor neurons supplying the target muscle. A demonstration and a method improving the study of motor evoked potentials. *Brain*. 1998;121(Pt 3):437–50.
89. Weber M, Eisen AA. Magnetic stimulation of the central and peripheral nervous systems. *Muscle Nerve*. 2002;25(2):160–75.
90. Pascual-Leone A, Tormos JM, Keenan J, Tarazona F, Cañete C, Catalá MD. Study and modulation of human cortical excitability with transcranial magnetic stimulation. *J Clin Neurophysiol*. 1998;15(4):333–43.
91. Mills KR. *Magnetic stimulation of the human nervous system*. Cary: Oxford University Press; 2000. Chapter 4, Motor effects of brain stimulation; p. 71-115.
92. Kujirai T, Caramia M, Rothwell JC, Day BL, Thompson PD, Ferbert A, et al. Corticocortical inhibition in human motor cortex. *J Physiol*. 1993;471:501–19.

93. Chen R, Tam A, Bütefisch C, Corwell B, Ziemann U, Rothwell JC, et al. Intracortical inhibition and facilitation in different representations of the human motor cortex. *J Neurophysiol.* 1998;80(6):2870–81.
94. Ziemann U, Rothwell JC, Ridding MC. Interaction between intracortical inhibition and facilitation in human motor cortex. *J Physiol.* 1996;496(Pt 3):873–81.
95. Ziemann U, Chen R, Cohen LG, Hallett M. Dextromethorphan decreases the excitability of the human motor cortex. *Neurology.* 1998;51(5):1320–24.
96. McDonnell MN, Orekhov Y, Ziemann U. The role of GABA(B) receptors in intracortical inhibition in the human motor cortex. *Exp Brain Res.* 2006;173(1):86–93.
97. Paulus W, Classen J, Cohen LG, Large CH, Di Lazzaro V, Nitsche M, et al. State of the art: pharmacologic effects on cortical excitability measures tested by transcranial magnetic stimulation. *Brain Stimul.* 2008;1(3):151–63.
98. Salih F, Khatami R, Steinheimer S, Hummel O, Kühn A, Grosse P. Inhibitory and excitatory intracortical circuits across the human sleep-wake cycle using paired-pulse transcranial magnetic stimulation. *J Physiol.* 2005;565(Pt 2):695–701.
99. Smith MJ, Adams LF, Schmidt PJ, Rubinow DR, Wassermann EM. Effects of ovarian hormones on human cortical excitability. *Ann Neurol.* 2002;51(5):599–603.
100. Smith MJ, Keel JC, Greenberg BD, Adams LF, Schmidt PJ, Rubinow DA, et al. Menstrual cycle effects on cortical excitability. *Neurology.* 1999;53(9):2069–72.
101. Valls-Solé J, Pascual-Leone A, Wassermann EM, Hallett M. Human motor evoked responses to paired transcranial magnetic stimuli. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1992;85(6):355–64.
102. Ziemann U. Pharmacology of TMS. *Suppl Clin Neurophysiol.* 2003;56:226–31.
103. Tokimura H, Di Lazzaro V, Tokimura Y, Oliviero A, Profice P, Insola A, et al. Short latency inhibition of human hand motor cortex by somatosensory input from the hand. *J Physiol.* 2000;523(Pt 2):503–13. Erratum in: *J Physiol (Lond)* 2000;524(Pt 3):942.
104. Rizzo V, Aricò I, Liotta G, Ricciardi L, Mastroeni C, Morgante F, et al. Impairment of sensory-motor integration in patients affected by RLS. *J Neurol.* 2010;257(12):1979–85.
105. Stefan K, Kunesch E, Cohen LG, Benecke R, Classen J. Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain.* 2000;123(Pt 3):572–84.
106. Scalise A, Pittaro-Cadore I, Janes F, Marinig R, Gigli GL. Changes of cortical excitability after dopaminergic treatment in restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2010;11(1):75–81.
107. Caramia MD, Scalise A, Gordon R, Michalewski HJ, Starr A. Delayed facilitation of motor cortex excitability following repetitive finger movements. *Clin Neurophysiol.* 2000;111(9):1654–60.
108. Ziemann U, Tergau F, Bruns D, Baudewig J, Paulus W. Changes in human motor cortex excitability induced by dopaminergic and anti-dopaminergic drugs. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1997;105(6):430–7.

109. Fehrenbacher JC, Taylor CP, Vasko MR. Pregabalin and gabapentin reduce release of substance P and CGRP from rat spinal tissues only after inflammation or activation of protein kinase C. *Pain*. 2003;105(1-2):133–41.
110. Dooley DJ, Mieske CA, Borosky SA. Inhibition of K(+)-evoked glutamate release from rat neocortical and hippocampal slices by gabapentin. *Neurosci Lett*. 2000;280(2):107–10.
111. Dooley DJ, Donovan CM, Pugsley TA. Stimulus-dependent modulation of [(3)H]norepinephrine release from rat neocortical slices by gabapentin and pregabalin. *J Pharmacol Exp Ther*. 2000;295(3):1086–93.
112. Lang N, Sueske E, Hasan A, Paulus W, Tergau F. Pregabalin exerts oppositional effects on different inhibitory circuits in human motor cortex: a double-blind, placebo-controlled transcranial magnetic stimulation study. *Epilepsia*. 2006;47(5):813–9.
113. Rizzo V, Quartarone A, Bagnato S, Battaglia F, Majorana G, Girlanda P. Modification of cortical excitability induced by gabapentin: a study by transcranial magnetic stimulation. *Neurol Sci*. 2001;22(3):229–32.
114. Tergau F, Wischer S, Paulus W. Motor system excitability in patients with restless legs syndrome. *Neurology*. 1999;52(5):1060–3.
115. Nardone R, Ausserer H, Bratti A, Covi M, Lochner P, Marth R, et al. Cabergoline reverses cortical hyperexcitability in patients with restless legs syndrome. *Acta Neurol Scand*. 2006;114(4):244–9.
116. Quatralle R, Manconi M, Gastaldo E, Eleopra R, Tugnoli V, Tola MR, et al. Neurophysiological study of corticomotor pathways in restless legs syndrome. *Clin Neurophysiol*. 2003;114(9):1638–45.
117. Scalise A, Pittaro-Cadore I, Golob EJ, Gigli GL. Absence of postexercise and delayed facilitation of motor cortex excitability in restless legs syndrome: evidence of altered cortical plasticity? *Sleep*. 2006;29(6):770–5.
118. Entezari-Taher M, Singleton JR, Jones CR, Meekins G, Petajan JH, Smith AG. Changes in excitability of motor cortical circuitry in primary restless legs syndrome. *Neurology*. 1999;53(6):1201–5.
119. Kutukcu Y, Dogruer E, Yetkin S, Ozgen F, Vural O, Aydin H. Evaluation of periodic leg movements and associated transcranial magnetic stimulation parameters in restless legs syndrome. *Muscle Nerve*. 2006;33(1):133–7.
120. Stiasny-Kolster K, Haeske H, Tergau F, Müller HH, Braune HJ, Oertel WH. Cortical silent period is shortened in restless legs syndrome independently from circadian rhythm. *Suppl Clin Neurophysiol*. 2003;56:381–9.
121. Ahlgrén-Rimpiläinen A, Lauerma H, Kähkönen S, Markkula J, Rimpiläinen I. Recurrent CSPs after transcranial magnetic stimulation of motor cortex in restless legs syndrome. *Neurol Res Int*. 2012;2012:628949
122. Gorsler A, Liepert J. Influence of cabergoline on motor excitability in patients with restless legs syndrome. *J Clin Neurophysiol*. 2007;24(6):456–60.
123. O'Keeffe ST, Gavin K, Lavan JN. Iron status and restless legs syndrome in the elderly. *Age Ageing*. 1994;23(3):200–3.

124. Rizzo V, Aricò I, Mastroeni C, Morgante F, Liotta G, Girlanda P, et al. Dopamine agonists restore cortical plasticity in patients with idiopathic restless legs syndrome. *Mov Disord.* 2009;24(5):710–5.
125. Scalise A, Cadore IP, Gigli GL. Motor cortex excitability in restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2004;5(4):393–6.
126. Gündüz A, Adatepe NU, Kızıltan ME, Karadeniz D, Uysal Ö. Circadian changes in cortical excitability in restless legs syndrome. *J Neurol Sci.* 2012;316(1-2):122-125.
127. Lanza G, Lanuzza B, Aricò D, Cantone M, Cosentino FI, Pennisi M, et al. Direct comparison of cortical excitability to transcranial magnetic stimulation in obstructive sleep apnea syndrome and restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2015;16(1):138–42.
128. Bucher SF, Seelos KC, Oertel WH, Reiser M, Trenkwalder C. Cerebral generators involved in the pathogenesis of the restless legs syndrome. *Ann Neurol.* 1997;41(5):639–45.
129. Ridding MC, Inzelberg R, Rothwell JC. Changes in excitability of the motor cortical circuitry in patients with Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 1995;37(2):181–8.
130. Wetter TC, Eisensehr I, Trenkwalder C. Functional neuroimaging studies in restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2004;5(4):401–6.
131. Lidow MS, Goldman-Rakic PS, Rakic P, Innis RB. Dopamine D2 receptors in the cerebral cortex: distribution and pharmacological characterization with [3H]raclopride. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(16):6412–6.
132. Bjorklund A, Lindvall O. Dopamine-containing systems in the CNS. In: Bjorklund A, Hokfelt T, editors. *Handbook of chemical neuroanatomy. Vol. 2, Classical transmitter in the CNS.* [S.l.]: Elsevier; 1984. p. 55–122.
133. Goldman-Rakic PS, Leranth C, Williams SM, Mons N, Geffard M. Dopamine synaptic complex with pyramidal neurons in primate cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(22):9015–9.
134. Smiley JF, Williams SM, Szigeti K, Goldmann-Rakic PS. Light and electron microscopic characterization of dopamine-immunoreactive axons in human cerebral cortex. *J Comp Neurol.* 1992;321(3):325–35.
135. Flöel A, Breitenstein C, Hummel F, Celnik P, Gingert C, Sawaki L, et al. Dopaminergic influences on formation of a motor memory. *Ann Neurol.* 2005;58(1):121–30.
136. Otani S, Daniel H, Roisin MP, Crepel F. Dopaminergic modulation of long-term synaptic plasticity in rat prefrontal neurons. *Cereb Cortex.* 2003;13(11):1251–6.
137. Di Lazzaro V, Oliviero A, Saturno E, Dileone M, Pilato F, Nardone R, et al. Effects of lorazepam on short latency afferent inhibition and short latency intracortical inhibition in humans. *J Physiol.* 2005;564(Pt 2):661–8.
138. Di Lazzaro V, Oliviero A, Meglio M, Cioni B, Tamburrini G, Tonali P, et al. Direct demonstration of the effect of lorazepam on the excitability of the human motor cortex. *Clin Neurophysiol.* 2000;111(5):794–9.

139. Ilić TV, Meintzschel F, Cleff U, Ruge D, Kessler KR, Ziemann U. Short-interval paired-pulse inhibition and facilitation of human motor cortex: the dimension of stimulus intensity. *J Physiol.* 2002;545(Pt 1):153–67.
140. Ekbom K, Ulfberg J. Restless legs syndrome. *J Intern Med.* 2009;266(5):419–31.
141. Comella CL. Treatment of restless legs syndrome. *Neurotherapeutics.* 2014;11(1):177–87.
142. Hornyak M, Scholz H, Kohnen R, Bengel J, Kassubek J, Trenkwalder C. What treatment works best for restless legs syndrome? Meta-analyses of dopaminergic and non-dopaminergic medications. *Sleep Med Rev.* 2014;18(2):153–64.
143. Winkelmann J, Prager M, Lieb R, Pfister H, Spiegel B, Wittchen HU, et al. “Anxietas tibiarius”. Depression and anxiety disorders in patients with restless legs syndrome. *J Neurol.* 2005;252(1):67–71.
144. Kalaydjian A, Bienvenu OJ, Hening WA, Allen RP, Eaton WW, Lee HB. Restless legs syndrome and the five-factor model of personality: results from a community sample. *Sleep Med.* 2009;10(6):672–5.
145. Bajbouj M, Lisanby SH, Lang UE, Danker-Hopfe H, Heuser I, Neu P. Evidence for impaired cortical inhibition in patients with unipolar major depression. *Biol Psychiatry.* 2006;59(5):395–400.
146. Radhu N, de Jesus DR, Ravindran LN, Zanjani A, Fitzgerald PB, Daskalakis ZJ. A meta-analysis of cortical inhibition and excitability using transcranial magnetic stimulation in psychiatric disorders. *Clin Neurophysiol.* 2013;124(7):1309–20.
147. Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(20):11050–5.
148. Plewes DB, Kucharczyk W. Physics of MRI: a primer. *J Magn Reson Imaging.* 2012;35(5):1038–54.
149. Douaud G, Smith S, Jenkinson M, Behrens T, Johansen-Berg H, Vickers J, et al. Anatomically related grey and white matter abnormalities in adolescent-onset schizophrenia. *Brain.* 2007;130(Pt 9):2375–86.
150. Etgen T, Draganski B, Ilg C, Schröder M, Geisler P, Hajak G, et al. Bilateral thalamic gray matter changes in patients with restless legs syndrome. *Neuroimage.* 2005;24(4):1242–7.
151. Unrath A, Juengling FD, Schork M, Kassubek J. Cortical grey matter alterations in idiopathic restless legs syndrome: an optimized voxel-based morphometry study. *Mov Disord.* 2007;22(12):1751–6.
152. Celle S, Roche F, Peyron R, Faillenot I, Laurent B, Pichot V, et al. Lack of specific gray matter alterations in restless legs syndrome in elderly subjects. *J Neurol.* 2010;257(3):344–8.
153. Connor JR, Ponnuru P, Lee BY, Podskalny GD, Alam S, Allen RP, et al. Postmortem and imaging based analyses reveal CNS decreased myelination in restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2011;12(6):614–9.
154. Comley RA, Cervenka S, Palhagen SE, Panagiotidis G, Matthews JC, Lai RY, et al. A comparison of gray matter density in restless legs syndrome patients and matched controls using voxel-based morphometry. *J Neuroimaging.* 2012;22(1):28–32.

155. Margariti PN, Astrakas LG, Tsouli SG, Hadjigeorgiou GM, Konitsiotis S, Argyropoulou MI. Investigation of unmedicated early onset restless legs syndrome by voxel-based morphometry, T2 relaxometry, and functional MR imaging during the night-time hours. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2012;33(4):667–72.
156. Rizzo G, Manners D, Vetrugno R, Tonon C, Malucelli E, Plazzi G, et al. Combined brain voxel-based morphometry and diffusion tensor imaging study in idiopathic restless legs syndrome patients. *Eur J Neurol*. 2012;19(7):1045–9.
157. Chang Y, Chang HW, Song H, Ku J, Earley CJ, Allen RP, et al. Gray matter alteration in patients with restless legs syndrome: a voxel-based morphometry study. *Clin Imaging*. 2015;39(1):20–5.
158. Ségonne F, Dale AM, Busa E, Glessner M, Salat D, Hahn HK, et al. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage*. 2004;22(3):1060–75.
159. Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, et al. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron*. 2002;33(3):341–55.
160. Sled JG, Zijdenbos AP, Evans AC. A nonparametric method for automatic correction of intensity nonuniformity in MRI data. *IEEE Trans Med Imaging*. 1998;17(1):87–97.
161. Fischl B, Liu A, Dale AM. Automated manifold surgery: constructing geometrically accurate and topologically correct models of the human cerebral cortex. *IEEE Trans Med Imaging*. 2001;20(1):70–80.
162. Yu P, Grant PE, Qi Y, Han X, Ségonne F, Pienaar R, et al. Cortical surface shape analysis based on spherical wavelets. *IEEE Trans Med Imaging*. 2007;26(4):582–97.
163. Fischl B, Sereno MI, Dale AM. Cortical surface-based analysis. II: inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage*. 1999;9(2):195–207.
164. Fischl B, Sereno MI, Tootell RB, Dale AM. High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface. *Hum Brain Mapp*. 1999;8(4):272–84.
165. Cortical parcellation [Internet]. Boston: FreeSurferWiki. 2017 [cited 2017 Dec 6]. Available from: <https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/CorticalParcellation>
166. Kuperberg GR, Broome MR, McGuire PK, David AS, Eddy M, Ozawa F, et al. Regionally localized thinning of the cerebral cortex in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 2003;60(9):878–88.
167. Fischl B, Salat DH, van der Kouwe AJ, Makris N, Ségonne F, Quinn BT, et al. Sequence-independent segmentation of magnetic resonance images. *Neuroimage*. 2004;23 Suppl 1:S69–84.
168. Rosas HD, Liu AK, Hersch S, Glessner M, Ferrante RJ, Salat DH, et al. Regional and progressive thinning of the cortical ribbon in Huntington's disease. *Neurology*. 2002;58(5):695–701.
169. Pengas G, Pereira JM, Williams GB, Nestor PJ. Comparative reliability of total intracranial volume estimation methods and the influence of atrophy in a longitudinal semantic dementia cohort. *J Neuroimaging*. 2009;19(1):37–46.

170. Clarkson MJ, Cardoso MJ, Ridgway GR, Modat M, Leung KK, Rohrer JD, et al. A comparison of voxel and surface based cortical thickness estimation methods. *Neuroimage*. 2011;57(3):856–65.
171. Ghosh SS, Kakunoori S, Augustinack J, Nieto-Castanon A, Kovelman I, Gaab N, et al. Evaluating the validity of volume-based and surface-based brain image registration for developmental cognitive neuroscience studies in children 4 to 11 years of age. *Neuroimage*. 2010;53(1):85–93.
172. Fischl B, Rajendran N, Busa E, Augustinack J, Hinds O, Yeo BT, et al. Cortical folding patterns and predicting cytoarchitecture. *Cereb Cortex*. 2008;18(8):1973–80.
173. Rakic P, Ang ES, Breunig J. Setting the stage for cognition: genesis of the primate cerebral cortex. In: Gazzaniga MS. *The cognitive neurosciences*. 3rd ed. Cambridge: Massachusetts Institute of Technology; 2004. p. 33-49.
174. Sateia M. *International classification of sleep disorders*. 3rd ed. Darien: American Academy of Sleep Medicine; 2014.
175. Rossi S, Hallett M, Rossini PM, Pascual-Leone A; Safety of TMS Consensus Group. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin Neurophysiol*. 2009;120(12):2008–39.
176. Ziemann U, Reis J, Schwenkreis P, Rosanova M, Strafella A, Badawy R, et al. TMS and drugs revisited 2014. *Clin Neurophysiol*. 2015;26(10):1847-68.
177. Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia*. 1971;9(1):97–113.
178. Bertolazi AN, Fagondes SC, Hoff LS, Pedro VD, Menna Barreto SS, Johns MW. [Portuguese-language version of the Epworth sleepiness scale: validation for use in Brazil]. *J Bras Pneumol*. 2009;35(9):877–83. Portuguese.
179. Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep*. 1991;14(6):540–5.
180. McCormack HM, Horne DJ, Sheather S. Clinical applications of visual analogue scales: a critical review. *Psychol Med*. 1988;18(4):1007–19.
181. Hornyak M, Sohr M, Busse M; 604 and 615 Study Groups. Evaluation of painful sensory symptoms in restless legs syndrome: experience from two clinical trials. *Sleep Med*. 2011;12(2):186–9.
182. Kuhn YA, Keller M, Ruffieux J, Taube W. Adopting an external focus of attention alters intracortical inhibition within the primary motor cortex. *Acta Physiol (Oxf)*. 2016;220(2):289-299.
183. Mars RB, Bestmann S, Rothwell JC, Haggard P. Effects of motor preparation and spatial attention on corticospinal excitability in a delayed-response paradigm. *Exp Brain Res*. 2007;182(1):125–9.
184. Kaelin-Lang A, Cohen LG. Enhancing the quality of studies using transcranial magnetic and electrical stimulation with a new computer-controlled system. *J Neurosci Methods*. 2000;102(1):81–9.

185. Brasil-Neto JP, Cohen LG, Panizza M, Nilsson J, Roth BJ, Hallett M. Optimal focal transcranial magnetic activation of the human motor cortex: effects of coil orientation, shape of the induced current pulse, and stimulus intensity. *J Clin Neurophysiol.* 1992;9(1):132–6.
186. Boe SG, Rice CL, Doherty TJ. Estimating contraction level using root mean square amplitude in control subjects and patients with neuromuscular disorders. *Arch Phys Med Rehabil.* 2008;89(4):711–8.
187. Garvey MA, Ziemann U, Becker DA, Barker CA, Bartko JJ. New graphical method to measure silent periods evoked by transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol.* 2001;112(8):1451–60.
188. Rizzo V, Siebner HS, Morgante F, Mastroeni C, Girlanda P, Quartarone A. Paired associative stimulation of left and right human motor cortex shapes interhemispheric motor inhibition based on a Hebbian mechanism. *Cereb Cortex.* 2009;19(4):907–15.
189. Mugler JP 3rd, Brookeman JR. Three-dimensional magnetization-prepared rapid gradient-echo imaging (3D MP RAGE). *Magn Reson Med.* 1990;15:152–7.
190. Desikan RS, Fischl B, Dale AM, Salat DH, Makris N, Buckner RL, et al. Development of automated identification of cortical regions on MRI scans in AD patients [abstract]. *Neurobiol Aging.* 2004;25(Suppl 2):S376.
191. Allen RP, La Buda MC, Becker P, Earley CJ. Family history study of the restless legs syndrome. *Sleep Med.* 2002;3 Suppl:S3-7.
192. Fawcett T. An introduction to ROC analysis. *Pattern Recognit Lett.* 2006;27:861–74.
193. Zweig MH, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem.* 1993;39(4):561–77.
194. Liem F, Mérillat S, Bezzola L, Hirsiger S, Philipp M, Madhyastha T, et al. Reliability and statistical power analysis of cortical and subcortical FreeSurfer metrics in a large sample of healthy elderly. *Neuroimage.* 2015;108:95–109.
195. Lanza G, Cantone M, Lanuzza B, Pennisi M, Bella R, Pennisi G, et al. Distinctive patterns of cortical excitability to transcranial magnetic stimulation in obstructive sleep apnea syndrome, restless legs syndrome, insomnia, and sleep deprivation. *Sleep Med Rev.* 2015;39:50.
196. Ridding MC, Pearce SL, Flavel SC. Modulation of intracortical excitability in human hand motor areas. The effect of cutaneous stimulation and its topographical arrangement. *Exp Brain Res.* 2005;163(3):335–43.
197. Gao WJ, Wang Y, Goldman-Rakic PS. Dopamine modulation of perisomatic and peridendritic inhibition in prefrontal cortex. *J Neurosci.* 2003;23(5):1622–30.
198. Gao WJ, Goldman-Rakic PS. Selective modulation of excitatory and inhibitory microcircuits by dopamine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(5):2836–41.
199. Berardelli A, Abbruzzese G, Chen R, Orth M, Ridding MC, Stinear C, et al. Consensus paper on short-interval intracortical inhibition and other transcranial magnetic stimulation intracortical paradigms in movement disorders. *Brain Stimul.* 2008;1(3):183–91.

200. Leon-Sarmiento FE, Rizzo-Sierra CV, Bayona EA, Bayona-Prieto J, Doty RL, Bara-Jimenez W. Novel mechanisms underlying inhibitory and facilitatory transcranial magnetic stimulation abnormalities in Parkinson's disease. *Arch Med Res*. 2013;44(3):221–8.
201. Galvan A, Wichmann T. Pathophysiology of parkinsonism. *Clin Neurophysiol*. 2008;119(7):1459–74.
202. Gaspar P, Duyckaerts C, Alvarez C, Javoy-Agid F, Berger B. Alterations of dopaminergic and noradrenergic innervations in motor cortex in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 1991;30(3):365–74.
203. Allen RP, Connor JR, Hyland K, Earley CJ. Abnormally increased CSF 3-Ortho-methyldopa (3-OMD) in untreated restless legs syndrome (RLS) patients indicates more severe disease and possibly abnormally increased dopamine synthesis. *Sleep Med*. 2009;10(1):123–8.
204. Bara-Jimenez W, Aksu M, Graham B, Sato S, Hallett M. Periodic limb movements in sleep: state-dependent excitability of the spinal flexor reflex. *Neurology*. 2000;54(8):1609–16.
205. Vucic S, Kiernan MC. Novel threshold tracking techniques suggest that cortical hyperexcitability is an early feature of motor neuron disease. *Brain*. 2006;129(Pt 9):2436–46.
206. Sequeiros J, Coutinho P. Epidemiology and clinical aspects of Machado-Joseph disease. *Adv Neurol*. 1993;61:139–53.
207. D'Abreu A, França MC Jr, Yasuda CL, Campos BA, Lopes-Cendes I, Cendes F. Neocortical atrophy in Machado-Joseph disease: a longitudinal neuroimaging study. *J Neuroimaging*. 2012;22(3):285–91.
208. Grolez G, Moreau C, Danel-Brunaud V, Delmaire C, Lopes R, Pradat PF, et al. The value of magnetic resonance imaging as a biomarker for amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review. *BMC Neurol*. 2016;16(1):155.
209. Wang TY, Jao CW, Soong BW, Wu HM, Shyu KK, Wang PS, et al. Change in the cortical complexity of spinocerebellar ataxia type 3 appears earlier than clinical symptoms. *PLoS One*. 2015;10(4):e0118828.
210. Nihei K, McKee AC, Kowall NW. Patterns of neuronal degeneration in the motor cortex of amyotrophic lateral sclerosis patients. *Acta Neuropathol*. 1993;86(1):55–64.
211. Hu H, Gan J, Jonas P. Interneurons. Fast-spiking, parvalbumin+ GABAergic interneurons: from cellular design to microcircuit function. *Science*. 2014;345(6196):1255–63.
212. Chen R. Studies of human motor physiology with transcranial magnetic stimulation. *Muscle Nerve Suppl*. 2000;9:S26–32.
213. de Goede AA, Ter Braack EM, van Putten MJ. Single and paired pulse transcranial magnetic stimulation in drug naïve epilepsy. *Clin Neurophysiol*. 2016;127(9):3140–55.
214. Pawley AD, Chowdhury FA, Tangwiriyasakul C, Ceronie B, Elwes RD, Nashef L, et al. Cortical excitability correlates with seizure control and epilepsy duration in chronic epilepsy. *Ann Clin Transl Neurol*. 2017;4(2):87–97.
215. Cantello R, Tarletti R, Civardi C. Transcranial magnetic stimulation and Parkinson's disease. *Brain Res Rev*. 2002;38(3):309–27. Review.

216. Orth M, Snijders AH, Rothwell JC. The variability of intracortical inhibition and facilitation. *Clin Neurophysiol.* 2003;114(12):2362–9.
217. Damron LA, Dearth DJ, Hoffman RL, Clark BC. Quantification of the corticospinal silent period evoked via transcranial magnetic stimulation. *J Neurosci Methods.* 2008;173(1):121–8.
218. Säisänen L, Pirinen E, Teitti S, Könönen M, Julkunen P, Määtä S, et al. Factors influencing cortical silent period: optimized stimulus location, intensity and muscle contraction. *J Neurosci Methods.* 2008;169(1):231–8.
219. Kallioniemi E, Säisänen L, Könönen M, Awiszus F, Julkunen P. On the estimation of silent period thresholds in transcranial magnetic stimulation. *Clin Neurophysiol.* 2014;125(11):2247–52.
220. Earley CJ, Silber MH. Restless legs syndrome: understanding its consequences and the need for better treatment. *Sleep Med.* 2010;11(9):807–15.
221. McCarthy CS, Ramprashad A, Thompson C, Botti JA, Coman IL, Kates WR. A comparison of FreeSurfer-generated data with and without manual intervention. *Front Neurosci.* 2015;9:379.
222. Jovicich J, Czanner S, Han X, Salat D, van der Kouwe A, Quinn B, et al. MRI-derived measurements of human subcortical, ventricular and intracranial brain volumes: reliability effects of scan sessions, acquisition sequences, data analyses, scanner upgrade, scanner vendors and field strengths. *Neuroimage.* 2009;46(1):177–92.
223. Han X, Jovicich J, Salat D, van der Kouwe A, Quinn B, Czanner S, et al. Reliability of MRI-derived measurements of human cerebral cortical thickness: the effects of field strength, scanner upgrade and manufacturer. *Neuroimage.* 2006;32(1):180–94.
224. Hagino H, Tabuchi E, Kurachi M, Saitoh O, Sun Y, Kondoh T, et al. Effects of D2 dopamine receptor agonist and antagonist on brain activity in the rat assessed by functional magnetic resonance imaging. *Brain Res.* 1998;813(2):367–73.
225. Salgado-Pineda P, Delaveau P, Falcon C, Blin O. Brain T1 intensity changes after levodopa administration in healthy subjects: a voxel-based morphometry study. *Br J Clin Pharmacol.* 2006;62(5):546–51.
226. Ueda K, Fujiwara H, Miyata J, Hirao K, Saze T, Kawada R, et al. Investigating association of brain volumes with intracranial capacity in schizophrenia. *Neuroimage.* 2010;49(3):2503–8.
227. Belke M, Heverhagen JT, Keil B, Rosenow F, Oertel WH, Stiasny-Kolster K, et al. DTI and VBM reveal white matter changes without associated gray matter changes in patients with idiopathic restless legs syndrome. *Brain Behav.* 2015;5(9):e00327.
228. Unrath A, Müller HP, Ludolph AC, Riecker A, Kassubek J. Cerebral white matter alterations in idiopathic restless legs syndrome, as measured by diffusion tensor imaging. *Mov Disord.* 2008;23(9):1250–5.

Abstract

Purposes: To test the hypotheses that there is a significant difference in intracortical inhibition between healthy individuals and patients according to restless legs syndrome severity. To compare transcranial magnetic stimulation parameters of resting or active motor threshold and cortical silent period between patients with restless legs syndrome and controls. To perform FreeSurfer analysis and test the hypotheses that there are significant differences in gray matter thickness or volume in the primary motor and primary somatosensory cortex, caudate, pallidum, putamen and thalami between patients with restless legs syndrome and controls. **Methods:** Patients with restless legs syndrome and controls were recruited. Transcranial magnetic stimulation testing (single and paired pulse) was performed on the dominant motor cortex and data compared by ANOVA one-way. A post-hoc ROC curve analysis was performed to define a relevant cut-off (area under the curve > 0.70) value of intracortical inhibition to discriminate restless legs syndrome and control group, morphometric analysis of cortical surface was performed by FreeSurfer and analyzed in a whole-brain approach and by also regions of interest. **Results:** Transcranial magnetic stimulation data of 34 restless legs syndrome patients and 24 controls were analyzed. Intracortical inhibition was reduced in severe and very severe restless legs syndrome group in comparison to healthy individuals and in light to moderate restless legs syndrome group in comparison to controls ($F=8.83$; $p=0.001$). The resting motor threshold, active motor threshold and cortical silent period were not different between patients with restless legs syndrome and controls. A cut-off of 31.5% of intracortical inhibition using receiver operator characteristic curve analysis could discriminate restless legs syndrome and controls group. Morphometric analysis by FreeSurfer was performed in 35 restless legs syndrome patients and 26 controls. No structural differences were found in analyses of the whole brain or of regions of interest. **Conclusions:** The results support the presence of a dysfunction in GABA_A interneurons in the motor cortex in restless legs syndrome, independently of symptom's severity. Cortical surface analysis by FreeSurfer did not show differences in cortical thickness in primary motor and somatosensory cortex or in volume of the caudate nucleus, pallidum, putamen or thalami between patients with restless legs syndrome and controls.