



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

Plínio Luna de Albuquerque

**ASSOCIAÇÃO DA ESTIMULAÇÃO NÃO-INVASIVA TRANSCRANIANA E
TRANSMEDULAR AO EXERCÍCIO EM ESTEIRA SOBRE A EXCITABILIDADE
MEDULAR DE INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS**

Plínio Luna de Albuquerque

**ASSOCIAÇÃO DA ESTIMULAÇÃO NÃO-INVASIVA TRANSCRANIANA E
TRANSMEDULAR AO EXERCÍCIO EM ESTEIRA SOBRE A EXCITABILIDADE
MEDULAR DE INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como requisito à obtenção do título de doutor em Neurociências

Área de concentração: Neurociências

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Kátia Karina Monte-Silva

RECIFE | 2017

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

A345a Albuquerque, Plínio Luna de.
Associação da estimulação não-invasiva transcraniana e transmedular ao exercício em esteira sobre a excitabilidade medular de indivíduos saudáveis / Plínio Luna de Albuquerque. – 2017.
197 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Kátia Karina do Monte Silva.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento. Recife, 2017.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Estimulação magnética transcraniana. 2. Exercício. 3. Estimulação elétrica. 4. Neurofisiologia. 5. Voluntários saudáveis. I. Silva, kátia karina do monte (Orientadora). II. Título.

612.665 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS2018-007)

Plínio Luna de Albuquerque

**“ASSOCIAÇÃO DA ESTIMULAÇÃO NÃO-INVASIVA TRANSCRANIANA E
TRANSMEDULAR AO EXERCÍCIO EM ESTEIRA SOBRE A EXCITABILIDADE
MEDULAR DE INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS”**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do
Comportamento da Universidade Federal de
Pernambuco, como requisito parcial para a
obtenção do título de doutorado em
Neurociências.**

Aprovada em 14/12/2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª Dr^ª Paula Rejane Bezerra Diniz
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^ª Dr^ª Silvia Regina Arruda De Moraes
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^ª Dr^ª Adriana Carla Costa Ribeiro Clementino
Universidade Federal da Paraíba

Prof^ª Dr^º Alberto Galvão de Moura Filho
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^ª Dr^ª Kátia Karina do Monte-Silva
Universidade Federal de Pernambuco

*Dedico esta tese a Maria Berenice Lemos
Carneiro de Albuquerque e a José Fernando
Luna Alves pelo amor incondicional depositado
ao longo destes anos e por fazer de suas vidas
um constante serviço à humanidade.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por conceber o dom da vida e por conduzir com tanto amor cada etapa da minha vida; agradeço à Deus por colocar pessoas e experiências que me fizeram experimentar o seu imenso amor.

À Maria Berenice Lemos C. de Albuquerque, minha mãe, por sua maternidade e amor incondicionais, por todo cuidado, afeto, aconchego depositados ao longo de toda minha vida. Por ser um exemplo de força, garra e superação. Agradeço-te por me mostrar o valor que possuem os sonhos e o trabalho, você é a prova viva de que não existem limites físicos ou temporais para realizar os desejos mais profundos do coração, a ti meu imenso amor e gratidão.

À José Fernando Luna Alves, meu pai, por sua presença de fé, afeto, alegria contagiante, leveza, sorriso cativante e espírito de criança. Obrigado por mostrar a beleza das pequenas coisas e por seu amor sem limites. Obrigado por seu profundo cuidado para com os mais pobres e esquecidos da sociedade; com teu coração generoso aprendi a olhar além do “meu mundo” e das minhas perspectivas singulares. Aprendi que é muito melhor ter sonhos que contemplem a todos. A ti, pai querido, minha eterna gratidão.

À Rafael Luna de Albuquerque e Danilo Luna de Albuquerque, irmãos, amigos e companheiros de aventuras. Juntos dividimos tantas risadas e aperreios, tantos momentos felizes e profundos que me permitiram seguir em frente. Aos melhores e mais aventureiros irmãos que alguém poderia ter, o meu profundo obrigado.

À Cinthya Fernanda e a Bento Luna, membros da família que enchem meu coração de alegria. Vocês são partes fundamentais da composição da harmonia e da vida da nossa casa. Cinthya, obrigado pelos olhares profundos, cheios de amor e gratuidade. Bento, obrigado por sua pureza, sua alegria e vivacidade! A vocês um grande e afetuoso abraço de gratidão.

À Chiara Lubich, *in memoriam*, fundadora do movimento dos Focolares, por me mostrar um Ideal pelo qual vale a pena dar vida, a unidade. Por me apresentar uma família planetária e apresentar uma nova perspectiva de fé. Por todas as suas inspirações e projetos que me acompanharam e me acompanharão ao longo da vida. Obrigado por transformar a minha vida e de tantos outros com o teu ‘sim’ a Deus.

À Lucila Bezerra, amiga sempre presente, por dividir tantas alegrias, conversas, orações, viagens, pensamentos e inspirações. Sua presença marcante sempre me impulsionou a dar o

melhor de mim e a entender a grandeza que possuí o tempo compartilhado em boa companhia. Por sua amizade única e por tantos momentos que ficarão guardados no coração por sempre, o meu muito obrigado.

À Adriana Carla Costa Ribeiro Clementino e a Karen Lúcia, aqui representando o corpo docente da UFPB, pela formação de qualidade, por todo carinho e cuidado ao longo da minha graduação. Vocês são grandes mestres que me transmitiram valores e instigaram sonhos! A vocês o meu imenso obrigado!

À Katia Monte-Silva, por sua generosidade, coragem e ousadia em acolher um até então desconhecido no seu laboratório (Eu). Obrigado por toda confiança e oportunidades depositadas, pela chance de conhecer um grupo de pesquisa tão capaz e por correr riscos com as minhas ideias mais mirabolantes. Obrigado por apostar alto e permitir a realização deste sonho. Sua garra, empenho e vontade de conquistar seus sonhos são inspiradores. A ti minha profunda gratidão.

Ao professor Alberto Galvão de Moura Filho, por toda a contribuição durante à fase de concepção do estudo, por sua generosidade e sabedoria. Obrigado por todos os ensinamentos e encorajamentos, você é um grande exemplo de docente e de ser humano.

Obrigado à Mayara Campêlo e Thyciane Mendonça, sem vocês nada disso seria possível. Vocês sonharam, riram, choraram, madrugaram, apostaram, idealizaram, acreditaram e recomeçaram juntas comigo. Por toda amizade, parceria e fé. Por tudo que vivemos juntos! Por serem amigos e família. Vocês são tesouros que levarei na vida, grandes amigas que fizeram todo o esforço valer a pena. A vocês minha profunda e imensurável gratidão.

A Luis Mendes e Rodrigo Brito, e em vocês todos os estudantes de iniciação científica do LANA. Por toda confiança, trabalho e empenho. Vocês foram peças fundamentais neste projeto e no nosso time/família. Obrigado por toda parceria, generosidade e amizade. A vocês um grande obrigado por tudo!

À Adriana Baltar, por sua pureza de espírito, gratuidade, sabedoria e amor. Sua sabedoria é fruto de um amor profundo para com cada um que passa ao teu redor. Obrigado por dividir tantos momentos e por ser essa presença que transmite tanta paz. A ti minha profunda gratidão.

À Livia Shirahige (Shi), grande amiga, por sua fé, momentos de partilha e toda ajuda durante estes anos. Juntos vivemos momentos lindos e alegres que ficarão marcados no coração! A ti o meu grande obrigado.

À Débora Marques, por toda sua alegria, espontaneidade, amizade e confiança. Por todos os momentos divididos dentro e fora do laboratório. Por se fazer presente em momentos especiais da minha vida. Obrigado por tudo!

À Aristela Zanona, Camila Bordeaux, Lorena Figueiredo, Marina Mello, Mannaly Mendonça, Fernanda Nogueira, Marina Berenguer, Sérgio Rocha e todos os alunos de pós que passaram pelo LANA. Obrigado pelos momentos de partilha de conhecimento, por toda ajuda durante a condução do projeto, pelos momentos de convivência e amizade. Obrigado por constituir este grupo de excelência!

A todos os voluntários que se submeteram as longas avaliações. Obrigado por toda a paciência e confiança depositadas.

A dona Carminha, e aqui contemplo todos os funcionários do departamento de Fisioterapia da UFPE, por seu zelo para com os ambientes e pessoas. Seu sorriso e abraços tornaram esses anos muito mais afetuosos!

Aos amigos Isabelle Vasconcelos, Tibério Cezar, Marcelo Nen, Adré Filipe, Thairone Lopes, Fernando Cunha, Henrique Noblat, Micherlla Vitorino, Amyude Mariano, Suzzy Kelly, Yuska Ferreira, Carlos Junior, Murilo Ventura, Diogo Henrique, Narclébio Bruno, Leornado Leando, Samara Macêdo e tantos outros. Por toda amizade, afeto, pelos momentos de encorajamento e lazer, a vocês o meu muito obrigado!

À Leonardo Damasceno, por sua grandeza de espírito, exemplo de generosidade, serviço e concretude, o meu muito obrigado.

À Carlos Leal e Saad Zogheib, amigos e figuras inspiradoras, vocês são verdadeiros exemplos de doação e amor sem limites. Por vossa confiança e exemplo, a minha gratidão.

À Pablo Bispo, e em sua figura todos os companheiros de Focolare, por toda atenção, cuidado e orações. Por todas as conversas, partilhas, por sua grande generosidade e simplicidade, o meu obrigado.

Aos amigos e companheiros de trabalho Miriam Guerra, Sophie Eickmann, Marília Lima, Millu Almeida, Lícia Vasconcelos, Rosângela Cabral (Rosinha) que tanto me ensinam com seus exemplos de vida e sabedoria.

“O Amor gera a sabedoria”

Chiara Lubich

RESUMO

A presente tese consiste de dois estudos que têm por objetivo: sumarizar e avaliar a qualidade da evidência de estudos que verificaram o efeito da estimulação transmedular por corrente contínua (ETMCC) sobre a excitabilidade medular de indivíduos saudáveis (estudo 1) e avaliar o efeito de duas técnicas diferentes de estimulação não-invasiva do sistema nervoso central associadas ao exercício físico na esteira sobre a excitabilidade medular de indivíduos saudáveis (estudo 2). O primeiro estudo foi constituído por uma revisão sistemática com metanálise, sem restrição linguística, que incluiu artigos das seguintes bases de dados: PubMed (via MEDLINE), CINAHL (via EBSCO), PsycINFO, Web of Science e LILACS (via BIREME). Foram incluídos sete estudos crossover na avaliação do risco de viés e seis estudos na metanálise. A metanálise não verificou efeitos significativos quanto a amplitude do reflexo de Hoffman após a ETMCC anódica (diferença de média padronizada, DMP -0,09, IC95% -0,72 a 0,55, $p = 0,79$, $I^2 = 67\%$) e após a ETMCC catódica (DMP = 0,28, IC95% = -0,07 a 0,63, $p = 0,11$, $I^2 = 0\%$) em comparação ao grupo sham. Apenas efeitos adversos leves como coceira e prurido sobre a região envolta dos eletrodos ativo foram reportados pelos estudos. Todos estudos avaliados apresentaram alto risco de viés ou risco incerto para os domínios referentes à randomização, alocação e mascaramento. Embora os resultados fornecidos por esta metanálise tenham sido obtidos por uma análise com alta homogeneidade, é necessário considera-los com cautela, uma vez que foram produto de poucos estudos com limitado tamanho amostral. No segundo estudo, doze voluntários saudáveis foram submetidos a seis sessões contendo estimulação magnética transcraniana repetitiva (EMTr 1Hz, 20 Hz ou sham) ou ETMCC (anódica, catódica ou sham) associados a 20 minutos de caminhada na esteira (CE) com uma intensidade moderada. Em cada sessão foi feita apenas um tipo de estimulação. A mensuração da excitabilidade medular foi realizada por meio do reflexo de Hoffmann (rH) e pela depressão pós-ativação (DPa). Todas as medidas foram avaliadas antes, imediatamente após, 30 e 60 minutos após os procedimentos experimentais. Nossos resultados demonstraram que a sessão contendo ETMCC anódica/CE e a sessão contendo EMTr 20Hz/CE reduziram significativamente a amplitude do reflexo-H por até 30 minutos após a estimulação em comparação à condição baseline ($p = 0,005$ e $p = 0,034$, respectivamente). Não foi verificado nenhuma diferença significativa entre as sessões e em relação ao tempo para a DPa em nenhum dos intervalos avaliados. Estes resultados demonstram que a ETMCC e a EMTr quando combinadas com exercício físico de intensidade moderada são capazes de reduzir por até 30 minutos a excitabilidade medular sem que houvesse alteração dos parâmetros da DPa. Os resultados descritos pelos dois estudos desta tese possuem caráter inédito e contribuem para uma maior compreensão dos mecanismos de neurofisiologia acerca do controle da excitabilidade medular em indivíduos saudáveis após intervenções que combinam o uso da estimulação não-invasiva transmedular ou transcraniana do sistema nervoso com exercício físico. Portanto, estes resultados fornecem bases para a criação de futuros protocolos de intervenção em populações que apresentam déficits do controle a atividade reflexa espinal.

Palavras-chave: Estimulação Magnética Transcraniana. Exercício. Estimulação elétrica. Neurofisiologia. Voluntários saudáveis.

ABSTRACT

The present thesis consists of two studies with the following objectives: to summarize and evaluating the quality of evidence from studies that assessed the effect of trans-spinal direct current stimulation (tsDCS) on the spinal excitability of healthy individuals (study 1) and to evaluate the effect of two different techniques of non-invasive nervous system stimulation associated with treadmill exercise on the spinal excitability of healthy individuals (study 2). The first study was a systematic review with meta-analysis, without language restriction, that included articles from five databases: PubMed (via MEDLINE), CINAHL (via EBSCO), PsycINFO, Web of Science and LILACS (via BIREME). Seven crossover studies were included in the risk of bias assessment and six studies in the meta-analysis. Overall meta-analysis did not demonstrate significant change on the Hoffman's reflex amplitude after anodal (standardized mean difference, pooled SMD = -0.09, 95% CI = -0.72 to 0.55, $p = 0.79$, $I^2 = 67\%$) or cathodal tsDCS (pooled SMD = 0.28, 95% CI = -0.07 to 0.63, $p = 0.11$, $I^2 = 0\%$) compared to the sham condition. Only slight adverse effects such as itching and pruritus under active electrodes were reported by the studies. Regarding the risk of bias assessment, all included studies presented a high risk or uncertain risk of bias for the randomization, allocation or blinding domains. Although the results provided by this meta-analysis were obtained from a very consistent analysis with high homogeneity, it is necessary to consider them with caution, since due to limited number of included studies with a small sample size. In the second study, twelve healthy volunteers underwent to six single sessions containing rTMS (1Hz, 20Hz or sham) or tsDCS (anodal, cathodal or sham) associated with a 20 minutes walking on the treadmill (WT) at moderate intensity. The spinal cord excitability was assessed by the Hoffmann reflex (Hr) and homosynaptic depression (HD). All measurements were performed before, immediately after, 30 and 60 minutes after the experimental procedures. Our results show revealed a significant reduction in the Hr amplitude up to 30 minutes after stimulation offset after anodal tsDCS/WT ($p = 0.005$) and 20 Hz rTMS/WT ($p = 0.034$) sessions in comparison to the baseline condition. No significant difference was found for HD values in relation to the comparison between the sessions and the baseline condition. These results demonstrate that tsDCS and rTMS combined with physical exercise are able to promote long-lasting changes in the spinal cord excitability. The unprecedented results derived from this thesis contribute to a better understanding of the neurophysiology mechanisms concerning to the modulation of the spinal excitability after the combination of different neuromodulatory techniques in healthy individuals. In addition, these results provide basis for the creation of future intervention for populations with deficits in inhibitory control of spinal reflex activity.

KEYWORDS: Transcranial Magnetic Stimulation. Exercise. Electric Stimulation. Neurophysiology. Healthy Volunteers.

TESE

Tabela 1. Caracterização e principais resultados dos estudos que avaliaram os efeitos da estimulação magnética transcraniana repetitiva sobre a excitabilidade medular de sujeitos saudáveis e com patologias do sistema nervoso.....49

Tabela 2. Caracterização e principais resultados dos estudos que utilizaram estimulação transmedular por corrente contínua em humanos.....65

Tabela 3 - Caracterização dos estudos que investigaram as repercussões da atividade física na excitabilidade medular de indivíduos saudáveis e com patologias do sistema nervoso.....78

ESTUDO 1 (REVISÃO SISTEMÁTICA)

Table 1 - Characteristics of the included studies.....133

Table 2 - Parameters of stimulation, outcomes and main results of included studies134

Supporting information. Appendix 1- Combination of descriptors and free terms for each database used for the identification of the studies.....135

ESTUDO 2 (ESTUDO CROSSOVER)

Table 1 - Mean and standard deviation of the neurophysiological parameters at baseline (raw values).....162

Table 2 - Baseline-standardized values for motor evoked potential, maximal Hoffmann reflex and M-wave ration, nociceptive flexor reflex and homosynaptic depression after repetitive transcranial magnetic stimulation and trans-spinal direct current stimulation associated with physical exercise sessions.....163

TESE

Figura 1 - Representação gráfica dos principais acidentes anatômicos da medula espinal.....	30
Figura 2 - Sistema de vias ascendentes e descendente da medula espinal.....	32
Figura 3 - Representação esquemática das influências sensoriais periféricas e do comando motor descendente sobre os interneurônios medulares	33
Figura 4 - Representação esquemática do reflexo de Hoffman (reflexo H)	36
Figura 5 - Curva de recrutamento para o reflexo H e onda M	37
Figura 6 - Representação esquemática da estimulação magnética transcraniana.....	45
Figura 7 - Repressão esquemática dos efeitos de uma corrente polarizada sobre o potencial de ação de uma fibra de neurônio.....	59
Figura 8 - Representação esquemática do efeito de dois eletrodos polarizados na medula espinal.....	60
Figura 9. Vista anterior e lateral da distribuição da amplitude de estimulação em joules (J) na medula espinal, cauda equina e nervos espinais durante uma montagem de estimulação transmedular por corrente contínua.....	70
Figura 10 - Influências descendentes e periféricas do central gerador de padrão de passos.....	73
Figura 11 - Combinação dos termos livres e descritores utilizados para a busca dos artigos em cada base de dados da revisão sistemática.....	84
Figura 12 – Desenho do estudo.....	90
Figura 13 - Disposição dos eletrodos para a captação da atividade eletromiográfica e estimulação do reflexo-H e da DPa	92

Figura 14 - Posicionamento dos indivíduos para captação do reflexo – H e depressão pós-ativação.....	93
Figura 15 - Curva de recrutamento do reflexo de Hoffman. Linha azul representa as respostas H e linha verde as respostas da onda M	94
Figura 16 – Avaliação da depressão pós-ativação a partir da liberação de pares de pulsos.....	95
Figura 17 - Estimulador elétrico utilizado para aplicação da Estimulação Transmedular por Corrente Contínua e montagem dos eletrodos	96
Figura 18 - Software utilizado para estabelecimento da intensidade de saída do estimulador para determinação do limiar motor de repouso e montagem dos eletrodos para captação da atividade eletromiográfica.....	97
Figura 19 - Parâmetros utilizados durante a Estimulação Magnética Transcraniana repetitiva (EMTr).....	98
Figura 20 - Aplicação da Estimulação Magnética Transcraniana (EMTr).....	99
Figura 21 - Exercício físico na esteira.....	100

ESTUDO 1 (REVISÃO SISTEMÁTICA)

Figure 1 - PRISMA flow diagram.....	130
Figure 2 - Risk of bias summary: review authors' judgments about each risk-of-bias item for each included study.....	131
Figure 3 - Forest plot of standard mean differences of spinal cord excitability measures after trans-spinal direct current stimulation, compared to sham stimulation.....	132

ESTUDO 2 (ESTUDO CROSSOVER)

Figure 1 – CONSORT flow diagram.....	159
Figure 2 – Induced effects of non-invasive stimulation combined with treadmill exercise in the monosynaptic reflex activity.....	160
Figura 3 - Induced effects of non-invasive stimulation combined with treadmill in the corticospinal excitability	161

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μV	Microvolt
5-HT	5-hidroxitriptamina
AE	Área do eletrodo
AgCl	Cloreto de prata
AVC	Acidente Vascular Cerebral
BIREME	Biblioteca Regional de Medicina
BDNF	Do inglês, Brain-Derived Neurotrophic Factor
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CE	Caminhada na esteira
CGPs	Centros Geradores de Padrão de passos
CI	Do inglês, Confidence Interval
CINAHL	Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature
CIPRN	Comissão Internacional de Proteção a Radiação Não-ionizante
Cm	Centímetros
cm^2	Centímetros quadrados
Cz	Ponto de referência central no sistema de marcação 10/20 de EEG
Decs	Descritores em Ciências da Saúde
DH	Depressão Homossináptica
DMP	Diferença de Média Padronizada

DP	Desvio padrão
DPa	Depressão pós-ativação
EEG	Eletroencefalograma
EFE	Exercício Físico na Esteira
EMT	Estimulação Magnética Transcraniana
EMT-p	Estimulação Magnética Transcraniana de pulso simples
EMT-pp	Estimulação Magnética Transcraniana de pulso pareado
EMTr	Estimulação Magnética Transcraniana repetitiva
EP	Erro padrão
ETMCC	Estimulação Transmedular por Corrente Contínua
FC	Frequência cardíaca
FC máx	Frequência cardíaca máxima
FIC	Facilitação intracortical
GABA	ácido γ -aminobutírico
H1	Reflexo de Hoffmann não-condicionado
H2	Reflexo de Hoffmann condicionado
HD	Do inglês, Homosynaptic Depression
Hr	Do inglês, Hoffmann reflex
Hz	Hertz
I ²	Índice de heterogeneidade
IC	Intervalo de Confiança

IIC	Inibição intracortical
IICL	Inibição Intracortical de curta latência;
IPAQ	Questionário Internacional de Atividade Física
J	Joules
kA	kiloampères
Kg	Quilograma
km/h	Quilômetro por hora
L2	Segunda vértebra lombar
LANA	Laboratório de Neurociência Aplicada
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
LMR	Limiar Motor de Repouso
LrH	Limiar do reflexo de Hoffmann
LTD	Do inglês, Long Term Depression
LTP	Do inglês, Long Term Potentiation
M1	Córtex motor primário
mA	Miliampère
mA/cm ²	Miliampère por centímetro quadrado
MDD	Mínima Diferença Detectável
MEDLINE	Do inglês, Medical Literature Analysis and Retrieval System Online
MEP	Do inglês, Motor Evoked Potential
MeSH	Do inglês, Medical subheadings

Ms	milisegundo
mV	Milivolts
N	Tamanho amostral
NMDA	N-Metil D-Aspartato
Onda M	Onda Motora
PEM	Potencial Evocado Motor
PID	Músculo primeiro interósseo dorsal
PRISMA	Do inglês, Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses
PROSPERO	Do inglês, Prospective Register of Systematic Reviews
PSC	Período Silente Cortical
PSE	Percepção subjetiva do esforço
r.p.m	Rotações por minuto
Razão H/M	Razão entre a amplitude máxima do reflexo de Hoffmann e a onda M
Reflexo T	Reflexo tendíneo
Reflexo-H	Reflexo de Hoffmann
RevMan	Review Manager
rH	Reflexo de Hoffmann
RIII	Componente doloroso do reflexo de retirada da perna
RRP	Reflexo de Retirada da Perna
rTMS	Do inglês, repetitive Transcranial Magnetic Stimulation

S1	Primeira vértebra sacral
S4	Quarta vértebra sacral
SD	Do inglês, Standard deviation
SENIAM	Surface Electromyography for the Non-invasive Assessment of Muscles
SMD	Do inglês, Standardized Mean Difference
SNC	Sistema Nervoso Central
SPSS	Do inglês, Statistical Package for the Social Sciences
T	Tesla
T0	Avaliação imediatamente após os procedimentos experimentais
T1	Primeira vértebra torácica
T11	Décima primeira vértebra torácica
T12	Décima segunda vértebra torácica
T30	Avaliação 30 minutos após os procedimentos experimentais
T60	Avaliação 60 minutos após os procedimentos experimentais
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
tsDCS	Do inglês, trans-spinal Direct Current Stimulation
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
V	Volts
V/m	Volt por metro
WT	Do inglês, Walking on the treadmill

$\alpha - \text{Mn}$

Motoneurônio alfa.

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	24
2	INTRODUÇÃO	26
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	29
3.1	Anatomofisiologia da medula espinal	29
3.2	Medidas para avaliação da excitabilidade espinal.....	34
3.2.1	Reflexo de Hoffmann (Reflexo H)	35
3.2.2	Onda F	37
3.2.3	Depressão pós-ativação (DPa).....	38
3.2.4	Reflexo de retirada da perna (RRP).....	39
3.3	Estimulação magnética transcraniana (EMT).....	40
3.3.1	Conceitos	40
3.3.2	Mecanismo de ação	43
3.3.3	Evidências da EMTr para modulação da excitabilidade medular em humanos	46
3.3.4	Critérios de segurança	53
3.4	Estimulação transmedular por corrente contínua (ETMCC).....	55
3.4.1	Histórico	55
3.4.2	Conceito.....	56
3.4.3	Mecanismos de ação.....	57
3.4.4	Evidências dos efeitos da ETMCC em humanos.....	61
3.4.5	Estudos de modelagem com ETMCC	69
3.4.6	Critérios de segurança	70
3.5	Exercício físico e modulação da excitabilidade medular	72
4	HIPÓTESES.....	80
4.1	Hipótese do estudo 1	80
4.2	Hipótese do estudo 2	80
5	OBJETIVOS.....	80
5.1	Objetivo geral do estudo 1	80
5.1.1	Objetivos específicos do estudo 1	80
5.2	Objetivo geral do estudo 2.....	81
5.2.1	Objetivos específicos do estudo 2.....	81
6	MÉTODOS	81
6.1	Estudo 1 – Revisão sistemática	81

6.1.1	Desenho do estudo.....	81
6.1.2	Critérios de elegibilidade.....	81
6.1.3	Delineamento metodológico.....	82
6.1.4	Procedimentos experimentais.....	82
6.1.5	Avaliação do risco de viés.....	85
6.1.6	Processamento e análise dos dados.....	85
6.2	Estudo 2 – Estudo crossover.....	86
6.2.1	Desenho, local e período do estudo.....	86
6.2.2	Aspectos éticos.....	87
6.2.3	Amostra e critérios de elegibilidade.....	87
6.2.4	Delineamento metodológico.....	89
6.2.5	Procedimentos experimentais.....	91
6.2.5.1	<i>Avaliação da excitabilidade medular.....</i>	<i>92</i>
6.2.5.2	<i>Reflexo de Hoffmann.....</i>	<i>93</i>
6.2.5.3	<i>Depressão pós-ativação (DPa).....</i>	<i>94</i>
6.2.5.4	<i>Estimulações não invasivas do SNC.....</i>	<i>95</i>
6.2.6	Processamento e análise dos dados.....	100
7	RESULTADOS.....	102
7.1	Artigo original 1.....	102
7.2	Artigo original 2.....	102
7.2.1	Caracterização da amostra.....	102
7.2.2	Amplitude da razão H max / M max.....	103
7.2.3	Depressão pós-ativação (DPa).....	103
8	CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	104
	REFERÊNCIAS.....	106
	APÊNDICE A – ARTIGO ORIGINAL 1 – REVISÃO SISTEMÁTICA.....	116
	APÊNDICE B – ARTIGO ORIGINAL 2: ESTUDO CROSSOVER.....	136
	APÊNDICE C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E	
	ESCLARECIDO.....	165
	APÊNDICE D – FICHA DE TRIAGEM.....	168
	APÊNDICE E- FICHA DE EVOLUÇÃO.....	175
	ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	178
	ANEXO B – REGISTRO NO <i>CLINICAL TRIALS</i>.....	181
	ANEXO C – QUESTIONÁRIO DE EFEITOS ADVERSOS.....	182

ANEXO D – ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO..	184
ANEXO E – ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO..	185
ANEXO F – ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO..	186
ANEXO G – ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO..	187
ANEXO H – ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO..	188
ANEXO I – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO.....	189
ANEXO J – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO.....	190
ANEXO K – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO.....	191
ANEXO L – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO.....	192
ANEXO M – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO.....	193
ANEXO N – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO.....	194
ANEXO O – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO.....	195
ANEXO P – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO.....	196
ANEXO Q – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO.....	197

1 APRESENTAÇÃO

Esta tese faz parte da linha de pesquisa intitulada “Métodos eletrofisiológicos em Medicina e Neurociências, da área de concentração Neurociências, do Programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco. Os experimentos desenvolvidos nesta tese também compõem a linha de pesquisa intitulada “Estudo da aplicabilidade de técnicas de estimulação cerebral na reabilitação de pacientes neurológicos” do Laboratório de Neurociência Aplicada (LANA) da mesma universidade, sob a direção da professora Dr^a Katia Monte-Silva.

Os estudos desenvolvidos nesta linha de pesquisa têm como ênfase: (i) entender como as técnicas de estimulação transcraniana interferem no controle motor de sujeitos saudáveis, (ii) verificar as repercussões terapêuticas da aplicação das estimulações transcranianas na recuperação e/ou reabilitação de pacientes com disfunções neurológicas e (iii) associar o uso das estimulações transcranianas com técnicas tradicionais da fisioterapia. A presente tese se enquadra nos tópicos (i) e (iii) desta linha, uma vez que se propôs a investigar os efeitos de diferentes montagens de estimulação transmedular por corrente contínua e estimulação magnética transcraniana repetitiva associadas ao exercício físico de intensidade moderada sobre a excitabilidade medular de sujeitos saudáveis.

O projeto de pesquisa que deu origem a esta tese introduziu uma nova linha de pesquisa no LANA na qual estão sendo realizados diversos estudos utilizando ferramentas de estimulação não-invasiva do sistema nervoso para modulação da excitabilidade medular e cortical de indivíduos saudáveis e com lesão medular. Com base nas contribuições trazidas por esta nova linha de pesquisa foram desenvolvidos três mestrados acadêmicos: dois no Programa de Pós-graduação em Fisioterapia da UFPE (um concluído e outro com previsão de término para fevereiro de 2019) e outro no Programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da UFPE. Também a partir desta nova linha de pesquisa foram desenvolvidos três projetos de iniciação científica (02 bolsistas da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco e 01 bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico). Além disso, o projeto de doutorado do discente teve o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por meio do recebimento de uma bolsa de pesquisa ao longo dos dois últimos anos da vigência.

Os dados obtidos neste estudo resultaram em contribuições científicas, tais como: (i) elaboração do artigo original: “Does trans-spinal direct current stimulation (tsDCS) modulate Hoffman reflex of healthy volunteers? A systematic review and metanalysis”, produzido a partir dos resultados obtidos no estudo 1 desta tese e submetido a revista *Spinal Cord* (qualis B1 para a área de Medicina II da CAPES, fator de impacto 1,87); (ii) elaboração do artigo original “*Effects of repetitive Transcranial Magnetic Stimulation and Trans-spinal Direct Current Stimulation associated with treadmill in spinal cord and cortical excitability of healthy subjects: A triple blind, randomized and sham-controlled study*”, produzido a partir dos resultados do estudo 2 desta tese e submetido a revista *PLOS ONE* (qualis A2 para a área de Medicina II da CAPES, fator de impacto 3,54). Salienta-se, que além dos dados obtidos no estudo 2, o artigo supracitado contém informações provenientes de um dos mestrados acadêmicos que foi produto do projeto de pesquisa inicial, no entanto, apenas os dados originais referentes a parte desenvolvida durante a vigência do doutorado serão apresentados neste manuscrito (sessão de métodos e considerações finais); (iii) elaboração e apresentação de cinco trabalhos apresentados no Simpósio Internacional de Neuromodulação (São Paulo, Brasil/ 2014, 2016 e 2017).

Além das contribuições científicas já mencionadas, a partir de outros estudos não diretamente relacionados ao tema da tese, o discente publicou outros três artigos em periódicos científicos (sendo dois deles na revista *Developmental Neurorehabilitation*, qualis B1 na área Medicina II, fator de impacto 1,58); submeteu um artigo ao *Jornal de Pediatria* (qualis B1 na área Medicina II, fator de impacto 2,08); orientou alunos em cursos especialização e trabalhos de conclusão de curso e apresentou trabalhos em congressos nacionais e internacionais.

Esta tese foi elaborada na forma de artigo científico conforme as especificações exigidas pelo Programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco e foi dividida nas seguintes seções: (i) introdução, breve explanação sobre o tema; (ii) revisão da literatura, contendo uma síntese dos temas importantes para compressão do objeto estudado; (iii) hipóteses, objetivos e métodos, apresentados separadamente para os estudos 1 e 2; (vi) resultados, apresentados sob a forma de dois artigos originais; (vii) considerações finais, sumarização das principais conclusões dos estudos 1 e 2; (viii) referências e (ix) apêndices e anexos.

2 INTRODUÇÃO

Estimulações cerebrais não-invasivas (do inglês, *Non-invasive Brain Stimulation*) são métodos seguros e eficazes para investigação e modulação da atividade do sistema nervoso em humanos (HUMMEL & COHEN, 2006). Dentre as técnicas de NIBS mais conhecidas, destacam-se as estimulações por meio de campos magnéticos induzidos, como a estimulação magnética transcraniana (EMT), e as estimulações por correntes elétricas polarizadas de baixa intensidade, a exemplo da estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC).

Desde o início da sua utilização na pesquisa clínica há aproximadamente 20 anos, a EMT e a ETCC têm contribuído fortemente na investigação de mecanismos fisiológicos e fisiopatológicos de circuitos neurais relacionados à motricidade, plasticidade e aprendizado, assim como no tratamento de pacientes com disfunções neurológicas e psiquiátricas (LEFAUCHEUR *et al.*, 2014; ROSSINI *et al.*, 2015).

Recentemente tem aumentado o interesse no uso das estimulações não-invasivas para modificar a atividades de circuitos neurais da medula espinal (PRIORI *et al.*, 2014; DONGÉS *et al.*, 2017). Os circuitos envolvidos nos reflexos medulares desempenham um papel importante para o bom funcionamento dos mecanismos relacionados controle de tônus muscular e promoção de ajustes posturais durante a execução do movimento (JANKOWSKA, 2001).

Deficiências na modulação dos circuitos inibitórios espinais são achados comum em pacientes que sofreram lesões do neurônio motor superior como nos quadros clínicos decorrentes de acidentes vasculares cerebrais, lesão medular e esclerose múltipla (TROMPETTO *et al.*, 2014). Estes déficits parecem exercer um papel central por exemplo na fisiopatologia da espasticidade e contribuem para o aparecimento de outros sinais clínicos como o clônus, desinibição de reflexos polissinápticos (hiperatividade de reflexos cutâneos) e déficits de controle motor relacionado a descoordenação entre a musculatura agonista e antagonista durante a contração muscular (GREY *et al.*, 2008; MUKHERJEE & CHAKRAVARTY, 2010).

Neste contexto, as técnicas de estimulação não-invasivas do sistema nervoso central apresentam-se como uma alternativa segura, indolor e eficaz para modular a excitabilidade de circuitos espinais e potencializar a recuperação funcional de pacientes que sofreram lesões do sistema nervoso central (LEFAUCHEUR *et al.*, 2014; PRIORI *et al.*, 2014).

A modulação da atividade espinal pode ser realizada de forma indireta, por meio da estimulação cortical, através da estimulação magnética transcraniana repetitiva - EMTr (BENITO *et al.*, 2012) ou pela estimulação direta dos circuitos medulares por meio da estimulação transmedular por corrente contínua (ETMCC) (COGIAMANIAN *et al.*, 2008).

A EMTr consiste de uma estimulação não invasiva do córtex cerebral por meio da aplicação de estímulos magnéticos liberados em intervalos regulares (CONFORTO 2013). Os efeitos decorrentes da EMTr se propagam em áreas corticais e subcorticais (ROSSINI *et al.*, 2015) e são dependentes da frequência, local de estimulação e posição da bobina (GROPPA *et al.*, 2012). De forma geral, a EMTr de alta frequência ($\geq 1\text{Hz}$) induz um aumento da excitabilidade do trato corticoespinal, enquanto que a EMTr de baixa frequência ($< 1\text{Hz}$) exerce efeito oposto (LEFAUCHEUR *et al.*, 2014). Ao nível de segmento medular, a EMTr parece induzir mudanças na inibição pré-sináptica nos terminais aferentes das fibras Ia; neste sentido, poucos estudos utilizando EMTr de alta frequência sobre o córtex motor primário foram capazes de demonstrar uma diminuição da atividade reflexa espinal (BERARDELLI *et al.*, 1998; PEREZ ; LUNGHOLT & NIELSEN, 2005b) enquanto que estudos com EMTr de baixa frequência sugeriram um aumento da atividade reflexa (VALERO-CABRÉ *et al.*, 2001).

Assim como a EMTr, a estimulação transmedular por corrente contínua (ETMCC) emergiu como uma potencial ferramenta não-invasiva para modulação da excitabilidade da medula e espinal e da transmissão corticoespinal (AHMED & WIERASZKO, 2012) (AGUILAR *et al.*, 2011; BOCCI *et al.*, 2014). Esta, consiste da aplicação de uma corrente direta sobre a medula por um período prolongado de tempo para modular funções fisiológicas como os reflexos espinais e a transmissão das vias ascendentes e descendentes (COGIAMANIAN *et al.*, 2008; COGIAMANIAN *et al.*, 2011).

Estudos prévios com modelos animais sugeriram que a ETMCC exerce seus efeitos de forma polaridade-dependente. Aguilar e colaboradores (2011) demonstraram que a ETMCC anódica reduziu as respostas dos campos potenciais locais após estímulos no núcleo grácil, enquanto que a ETMCC catódica forneceu o efeito oposto (AGUILAR *et al.*, 2011). A ETMCC catódica aumentou o reflexo de Hoffmann e as respostas musculares a estímulos evocados corticalmente (AHMED & WIERASZKO, 2012).

Em humanos, os efeitos da corrente direta nos circuitos reflexos dos segmentos medulares têm sido avaliados, principalmente, pelas conexões entre a fibra Ia e o motoneurônio alfa por meio do registro do reflexo de Hoffmann (COGIAMANIAN *et al.*, 2008;

COGIAMANIAN *et al.*, 2011). Os resultados reportados nos estudos com modelos animais, os efeitos da ETMCC nos reflexos monossinápticos espinais em indivíduos saudáveis ainda são controversos. Alguns estudos sugeriram não haver alterações na excitabilidade do reflexo-H após a ETMCC anódica ou catódica (WINKLER ; HERING & STRAUBE, 2010; COGIAMANIAN *et al.*, 2011; LIM & SHIN, 2011); entretanto, Lamy e colaboradores (2012) reportaram um desvio para a esquerda na curva de estímulo-resposta do reflexo H após a ETMCC anódica, indicando um aumento da excitabilidade (LAMY *et al.*, 2012).

Assim como as ferramentas de estimulação não-invasivas, o exercício físico também é capaz de modular a excitabilidade do SNC (KNIKOU, 2010). Dentre as diversas implicações sobre o sistema nervoso, o exercício atua em nível medular por meio da indução de mudanças na eficácia sináptica nas conexões entre a fibra aferente Ia e o motoneurônio (MEUNIER *et al.*, 2007). Estes efeitos são dependentes da intensidade, duração e complexidade das tarefas inseridas durante a atividade (PEREZ ; LUNGHOLT & NIELSEN, 2005a; MAZZOCCHIO *et al.*, 2006; MEUNIER *et al.*, 2007; MCDONNELL *et al.*, 2013; JUBEAU *et al.*, 2014; SINGH *et al.*, 2014).

Devido a capacidade de induzir mudanças na excitabilidade dos circuitos neurais e promover plasticidade, a EMTr e ETMCC têm sido utilizadas isoladamente como ferramentas terapêuticas para modular a atividade reflexa espinal (PEREZ ; LUNGHOLT & NIELSEN, 2005b; HEIDE *et al.*, 2014; PERROTTA *et al.*, 2016) e para potencializar a recuperação motora em sujeitos com desordens neurológicas (KUMRU *et al.*, 2010; HUBLI *et al.*, 2013; LEFAUCHEUR *et al.*, 2014; PRIORI *et al.*, 2014; RASTGOO *et al.*, 2016). Estudos recentes apontam para os benefícios da combinação entre diferentes técnicas não-invasivas do SNC como intervenções adjuntas para aumentar as respostas dos sistemas motores às intervenções comportamentais (BOLOGNINI ; PASCUAL-LEONE & FREGNI, 2009; ROCHA *et al.*, 2016). No entanto, a combinação de técnicas neuromodulatórias (ativas ou passivas) podem modificar as respostas do sistema nervoso e, por vezes, inibir ou suprimir o efeito de uma das técnicas (ABRAHAM, 2008).

Desta maneira, a associação entre duas técnicas neuromodulatórias poderia reforçar os efeitos da primeira intervenção ou ativar mecanismos neuroprotetores para manter o equilíbrio homeostático (MÜLLER-DAHLHAUS & ZIEMANN, 2015). Por esta razão, a compreensão acerca de como a combinação das diferentes técnicas neuromodulatórias atuam quando combinadas ao exercício físico sobre a excitabilidade do sistema nervoso central em modelos

saudáveis é de fundamental importância para o fornecimento de bases neurofisiológicas para criação de propostas terapêuticas para reabilitação de agravos do SNC.

Até o momento, não existem estudos que avaliaram o efeito dos diferentes parâmetros de EMTr (alta, baixa frequência e fictícia) e ETMCC (catódica, anódica e fictícia) sobre os arcos reflexos espinais, assim como a associação entre estas montagens e o exercício físico. Diante das lacunas supracitadas, este estudo se propõe a: (i) sumarizar e avaliar a qualidade da evidência dos estudos que investigaram a capacidade da ETMCC em modular a excitabilidade de arcos reflexos espinais e (ii) avaliar o efeito de diferentes parâmetros e polaridades da EMTr e ETMCC, respectivamente, associadas ao exercício físico na esteira sobre a excitabilidade medular de sujeitos saudáveis.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Nesta seção serão abordados de forma detalhada os principais temas envolvidos no estudo. Os tópicos a seguir resumem aspectos importantes para a compreensão da anatomofisiologia e medidas de avaliação da excitabilidade medular. Esta seção também contém a descrição dos mecanismos de ação e evidências dos estudos que utilizaram técnicas de estimulação não-invasivas do sistema nervoso central (estimulação magnética transcraniana e estimulação transmedular por corrente contínua) e do exercício físico para modular a excitabilidade dos circuitos espinais.

3.1 Anatomofisiologia da medula espinal

A medula espinal consiste de uma massa cilíndrica de neurônios e corresponde a extensão mais caudal do sistema nervoso central. Esta estrutura é dividida entre 31 a 33 segmentos (8 cervicais, 12 torácicos, 5 lombares, 5 sacrais e 1 coccígeo) e se encontra no interior do canal medular ocupando seus dois terços superiores. Topograficamente a medula apresenta duas fissuras sagitais ao longo da face anterior e posterior que a dividem em duas porções simétricas conectadas por duas porções centrais (comissuras anterior e posterior). Lateralmente, a medula possui sulcos ântero-laterais e póstero-laterais de onde partem as raízes ventrais e dorsais dos nervos espinais (Figura 1) (NÓGRÁDI & VRBOVÁ, 2006).

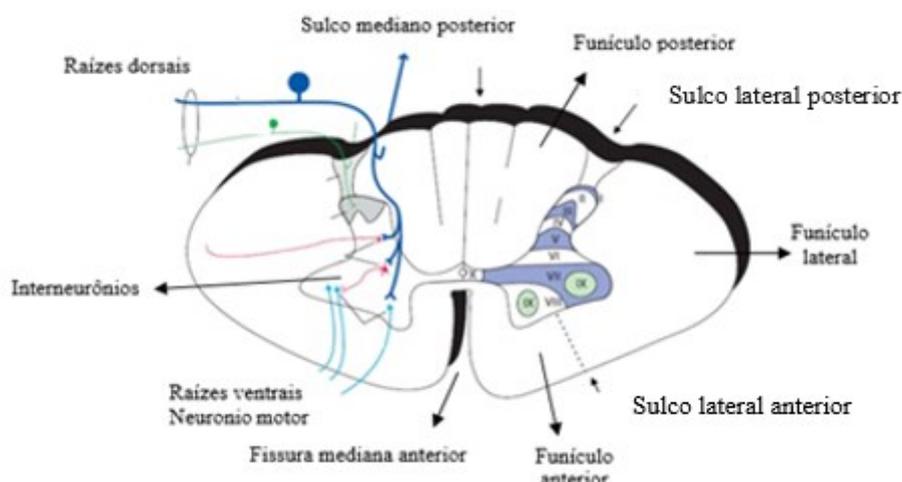


Figura 1 -Representação gráfica dos principais acidentes anatômicos da medula espinal. Fonte: adaptado de NOLTE & ANGEVINE, 2015.

Morfologicamente a medula é constituída por uma porção interna de substância cinzenta em forma de “H” envolta por uma porção externa de substância branca. Didaticamente a substância cinzenta é dividida em pares de cornos anteriores, laterais e posteriores e organizada funcionalmente em 10 lâminas, conhecidas como lâminas de Rexed. Os acidentes anatômicos citados no parágrafo anterior delimitam as regiões da substância branca medular em funículos (anteriores, laterais e posteriores). A nível cervical e torácico alto, o funículo posterior se subdivide em pares de fascículos, grácil e cuneiforme (Figura 1) (NÓGRÁDI & VRBOVÁ, 2006; BICAN ; MINAGAR & PRUITT, 2013).

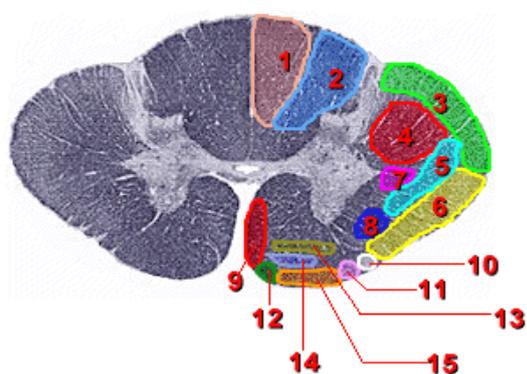
A substância cinzenta medular é subdividida de acordo com sua posição em relação ao canal medular. Na coluna situada anteriormente ao canal (corno anterior) encontram-se os corpos de neurônio motores, enquanto que na coluna posicionada posteriormente (corno posterior) partem os neurônios sensitivos. Ao nível dos segmentos torácicos e lombares altos (T1 a L2) e sacrais (S1 a S4) a região póstero-lateral do corno anterior da medula dá origem ao corno lateral da medula, de onde partem os neurônios pré-ganglionares do sistema nervoso simpático e parassimpático, respectivamente (NYBERG-HANSEN, 2013).

A substância branca é composta pelos axônios de neurônios que conduzem informações dos centros suprasegmentares para a periferia (vias descendentes) e da periferia para os centros superiores do sistema nervoso central (vias ascendentes). A maior parte das vias descendentes é formada pelo trato corticoespinal, proveniente do córtex motor primário (Figura 2). As vias

descendentes exercem influências sobre os interneurônios e neurônios motores do corno anterior da medula, assim como, influenciam regiões sensitivas do corno posterior da substância cinzenta permitindo aos centros superiores modular seletivamente as informações aferentes. De acordo com o trajeto no sistema nervoso central o trato corticoespinal pode ser dividido em três porções: i) **trato corticoespinal lateral**, constitui a maior parte das fibras (90% do total desta via), seus axônios cruzam o plano mediano a nível do bulbo e descendem pelo funículo lateral da medula de onde se projetam para interneurônios e neurônios motores da musculatura estriada apendicular; ii) **trato corticoespinal anterior**, formado por fibras que não cruzam o plano mediano ao nível bulbar, descendem pelo funículo anterior da medula e cruzam para o lado contra-lateral da substância branca medular de onde comandam interneurônios e neurônios motores inferiores da musculatura axial e proximal dos membros; iii) **trato corticoespinal lateral não-cruzado**, formado por uma menor proporção de fibras (2%) (BICAN ; MINAGAR & PRUITT, 2013).

Além do trato corticoespinal, as vias descendentes são compostas pelos tratos: i) **tratos vestibulo-espinal media e lateral**, ambos provenientes dos núcleos vestibulares da ponte e do bulbo, responsáveis por realizar o controle de músculos extensores relacionados ao controle de tônus e postura; ii) **trato tecto-espinal**, formado por fibras derivadas dos colículos superiores do mesencéfalo do lado contralateral que controlam os reflexos e o posicionamento da cabeça mediante aos estímulos sensoriais externos; iii) **trato retículo-espinal**, derivado da formação reticular, atuam na modulação dos fusos espinais e o iv) **trato rubro-espinal**, formado por fibras provenientes dos núcleos rubros do tronco encefálico contralaterais que atuam no controle de movimentos amplos de flexão do membro superior (BICAN ; MINAGAR & PRUITT, 2013).

A substância branca medular também contém os axônios de neurônios das vias ascendentes denominados de **fascículo grácil e cuneiforme**. Ambos os fascículos estão localizados na coluna dorsal e conduzem informações de vibração de propriocepção dos receptores táteis e articulares dos membros inferiores e superiores, respectivamente. Os **tratos espino-talâmico ventral e lateral** também compõem o sistema ascendente medular e conduzem informações de tato fino, dor e temperatura. Além dos componentes supracitados, o **trato espino-cerebelar dorsal e ventral** e **trato espino-reticular** também conduzem informações de propriocepção inconsciente dos membros inferiores e superiores ao cerebelo e dor difusa aos centros superiores (NÓGRÁDI & VRBOVÁ, 2006).



- 1) Fascículo Grácil
- 2) Fascículo cuneiforme
- 3) Trato espino-cerebelar dorsal
- 4) Trato corticoespinal lateral
- 5) Trato espino-talâmico lateral
- 6) Trato espino-cerebelar ventral
- 7) Trato rubro-espinal
- 8) Trato espino-tectal
- 9) Trato corticoespinal anterior
- 10) Trato olivo-espinal
- 11) Trato espino-olivar
- 12) Trato tecto-espinal
- 13) Trato retículo-espinal
- 14) Trato vestibulo-espinal

Figura 2 - Sistema de vias ascendentes e descendente da medula espinhal. Fonte: Adaptado do manual de anatomia da Northland community & technical college (WISETH, 2016).

As vias ascendentes e descendentes são integradas no seguimento medular por interneurônios conectados às raízes dorsais sensitivas e às raízes motoras ventrais. As raízes dorsais se diferenciam em diferentes fibras aferentes, como as fibras Ia e Ib (grossas e mielinizadas que conduzem informações de estiramento muscular e do órgão tendinoso de Golgi); fibras A-beta (médio calibre que conduzem informações dos receptores mecânicos da pele e das articulações); fibras A-delta (finas e pouco mielinizadas) e fibras C (finas e não-mielinizadas) que conduzem sensação térmica e dolorosa. As fibras das raízes ventrais também se diferenciam segundo o calibre e estrutura inervada, tais como: motoneurônio alfa (fibra de largo diâmetro que inerva as fibras extrafusais de músculos estriados); motoneurônio gama (médio diâmetro que inerva a porção estriada das fibras intrafusais dos fusos musculares) e os neurônios motores pré-ganglionares do sistema nervoso autônomo (BICAN ; MINAGAR & PRUITT, 2013).

Para o controle motor, a medula espinhal possui três diferentes funções, todas medidas pela mesma população de interneurônios e em condições normais são complementares, são elas: transformação de informações aferentes em padrões motores; geração endógena e/ou participação no desempenho de padrões de movimento complexos e transmissão e coordenação dos comandos descendentes para realização de movimentos voluntários e modulação dos estímulos provenientes da periferia (SCHOMBURG, 1990).

Os arcos reflexos medulares possuem uma função importante em relação aos mecanismos de proteção, manutenção da atividade tônica muscular, regulação de funções do sistema nervoso autônomo e ajustes durante a execução de movimentos. Embora não dependam do controle supraespinal, a atividade basal dos circuitos neurais da medula é influenciada por sinais provenientes do encéfalo e por circuitos inibitórios no segmento espinal (JANKOWSKA, 2001). A maior parte da população de interneurônios das vias reflexas medulares recebem uma ampla variedade de estímulos provenientes de diferentes sistemas receptores e realizam uma integração multissensorial (SCHOMBURG, 1990). Devido a convergência multissensorial nos circuitos reflexos medulares, todos os diferentes sistemas de receptores que são ativados durante o movimento atuam como moduladores da excitabilidade dos circuitos medulares ao longo da execução do movimento (SCHOMBURG, 1990)..

A figura 3 representa a convergência multissensorial para um circuito neural no segmento medular. Esta população de interneurônios se subdivide em várias subpopulações que se projetam para os diferentes conjuntos de motoneurônios que ativam diferentes grupos musculares. A seleção apropriada da subpopulação de interneurônios é comandada por centros supraespinais (ato motor voluntário) ou a depender da demanda das estruturas periféricas (atividade reflexa) (SCHOMBURG, 1990).

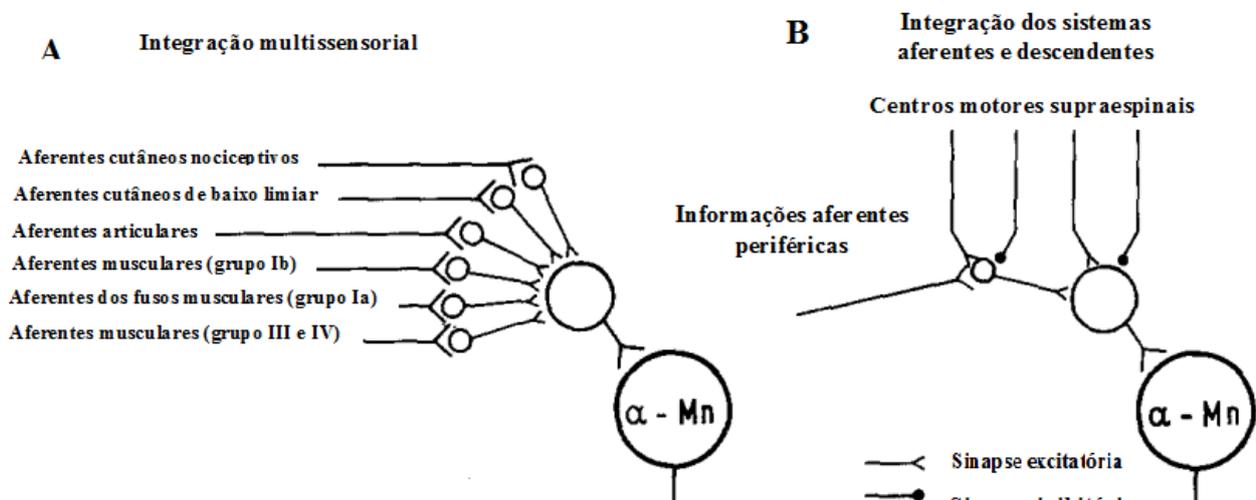


Figura 3 - Representação esquemática das influências sensoriais periféricas e do comando motor descendente sobre os interneurônios medulares. **A:** Integração de múltiplos *inputs* sensoriais sobre os interneurônios espinais que atuarão sobre o motoneurônio alfa. **B:** integração dos sistemas aferentes provenientes dos estímulos periféricos aos estímulos provenientes do sistema motor descendente sobre a rede de interneurônios que atuarão sobre o motoneurônio alfa. α -Mn: motoneurônio alfa. Fonte: SCHOMBURG, 1990.

Além dos mecanismos já mencionados nos arcos reflexos, a execução do ato motor voluntário envolve a participação de estruturas medulares e do sistema nervoso suprasegmentar. Antes da execução do ato motor ocorre a ativação de áreas relacionadas ao planejamento motor no córtex frontal e do tronco encefálico envolvidas com ajustes posturais e de tônus. Destas regiões partem impulsos para a musculatura axial e proximal dos membros por meio das vias descendentes do grupo ventro-medial (tratos corticoespinal anterior, vestibulo espinal, tecto espinal e retículo espinal). A seguir, áreas de planejamento no córtex frontal e circuitos de controle (cerebelo e núcleos da base) regulam a atividade dos neurônios motores superiores do córtex motor primário que assume um trajeto descendente por meio das vias corticoespinais laterais (LUNDY-EKMAN, 2012).

Ao nível do segmento medular os axônios do trato corticoespinal fazem sinapse com interneurônios espinais, estes, conectam-se aos neurônios motores inferiores no corno anterior da medula que comandam a liberação de acetilcolina na placa neural da musculatura estriada. Concomitantemente, a medula recebe informações somatossensoriais de órgãos tendinosos de golgi, fusos musculares e receptores na pele e articulações. Essas informações são transmitidas por meio de fibras aferentes e regulam a atividade dos motoneurônios inferiores por meio de circuitos reflexos de interneurônios espinais ou por mecanismos de alça longa. Nos circuitos de alça longa as informações aferentes são transmitidas ao córtex cerebral, cerebelo e tronco encefálico por tratos ascendentes e retornam por vias descendentes para modular a sensibilidade dos fusos por meio dos motoneurônios gama (LUNDY-EKMAN, 2012).

Deste modo, a execução do ato motor é composta por vias de controle voluntário oriundas do córtex cerebral e por mecanismos reflexos que atuam na modulação periférica. Ambos os mecanismos interagem e influenciam a resposta do fuso muscular. Além disso, as respostas do fuso podem ser modificadas por ajustes na sensibilidade e por contrações recentes em que o músculo foi submetido.

3.2 Medidas para avaliação da excitabilidade espinal

A mensuração da excitabilidade medular fornece parâmetros sobre a integridade e funcionalidade basal dos circuitos espinais. Os principais métodos utilizados para avaliar os circuitos medulares envolvem a ativação de arcos reflexos onde é possível verificar as respostas

das fibras neuronais aferentes, o equilíbrio entre as sinapses excitatórias e inibitórias na rede de interneurônios e a ativação dos neurônios motores espinais mediante a aplicação de um estímulo externo. Dentre as principais medidas utilizadas na avaliação da excitabilidade medular destacam-se o reflexo de Hoffmann (reflexo-H ou rH), a onda F, a depressão pós-ativação (ou depressão homossináptica) e o reflexo de retirada da perna (JANKOWSKA, 2001).

3.2.1 Reflexo de Hoffmann (Reflexo H)

Originalmente descrito por Paul Hoffmann em 1910, o reflexo H é um reflexo eletricamente induzido de comportamento análogo ao reflexo de estiramento gerado a partir de um estímulo mecânico. O rH tem sua origem no fuso muscular e pode ser utilizado para avaliar a excitabilidade medular por meio da mensuração da atividade do reflexo monossináptico (PALMIERI ; INGERSOLL & HOFFMAN, 2004). Portanto, o reflexo H consiste de uma estimativa da excitabilidade do motoneurônio alfa (α -MN) quando a inibição pré-sináptica e excitabilidade intrínseca do α -MN permanecem constantes (CAPADAY, 1997).

A partir do estímulo elétrico necessário para gerar as respostas do rH é possível mensurar a eficácia da transmissão sináptica que o estímulo percorre a fibra sensorial aferente Ia em direção a fibra motora do músculo correspondente. A porção eferente do arco reflexo resulta em potenciais de ação, gerados na sinapse entre a fibra aferente e o α -MN, estes percorrem toda a fibra eferente até a junção neuromuscular onde produzirá uma contração muscular captada pelo eletromiógrafo, ver figura 4 (PALMIERI ; INGERSOLL & HOFFMAN, 2004).

Os protocolos de estimulação mais adotados na avaliação do reflexo H utilizam a aplicação de um estímulo elétrico com pulso de onda quadrada de 1 milissegundo de duração sobre o nervo tibial posterior. O procedimento se inicia com a liberação de estímulos de baixa intensidade que são aumentados até o ponto de provocar a despolarização de uma fibra aferente primária. Inicialmente são ativadas as fibras de maior diâmetro e com o incremento da intensidade outras fibras aferentes Ia são recrutadas, resultando na ativação de mais α -MN e produzindo respostas de maior amplitude (PALMIERI ; INGERSOLL & HOFFMAN, 2004).

A medida que um estímulo elétrico tem sua intensidade aumentada ela resulta na ativação direta dos axônios motores tendo como consequência a geração da onda M. Devido ao menor diâmetro, os neurônios motores são ativados tardiamente, por esta razão, apenas altas intensidades induzem potenciais de ação diretos dos axônios motores para a junção

neuromuscular. Esta via direta provoca contração muscular sem passar pela medula espinal, portanto não consiste de uma resposta reflexa (CAPADAY, 1997).

A latência do reflexo H (tempo entre o estímulo elétrico e a resposta eletromiográfica) é dependente da localização do músculo. Desta maneira, músculos próximos à medula possuem menor latência reflexa. O músculo vasto medial, por exemplo, apresenta uma latência de 15 ms enquanto que o músculo sóleo possui uma latência aproximada de 30 ms (PALMIERI ; INGERSOLL & HOFFMAN, 2004). Devido ao pequeno trajeto entre o neurônio motor e o eletrodo de captação no músculo, a onda M possui uma latência inferior ao do reflexo H, cerca de 6 a 9 ms para o músculo sóleo (SCHINDLER-IVENS & SHIELDS, 2000; PALMIERI ; INGERSOLL & HOFFMAN, 2004).

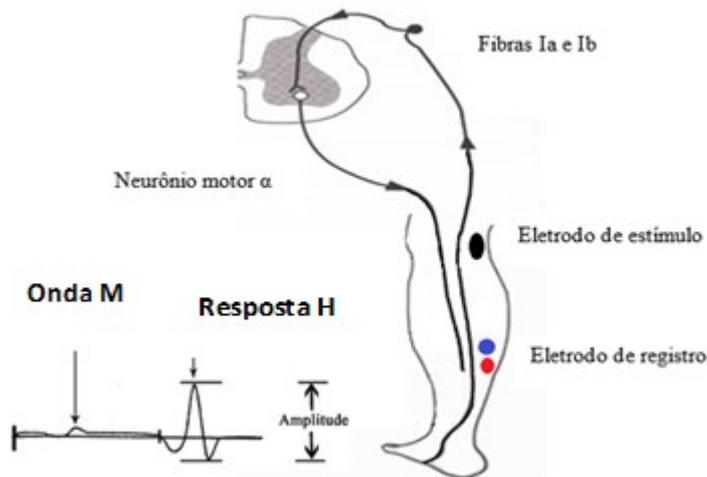


Figura 4 - Representação esquemática do reflexo de Hoffman (reflexo H). Fonte: o autor.

Tanto as medidas para resposta máxima do reflexo H quanto para a onda M podem ser obtidas a partir da curva de recrutamento. Nesta curva é possível visualizar inicialmente as respostas de H e também, à medida que a intensidade é aumentada, os valores para a onda M. Ao continuar o incremento da intensidade o reflexo H atinge o seu ponto de maior resposta (reflexo H máximo) e em seguida desaparece do traçado eletromiográfico enquanto que a onda M permanece estável, ver figura 5. Portanto, o reflexo H máximo representa a medida da máxima ativação reflexa enquanto que a onda M representa a ativação de todo conjunto de

axônios motores, ou seja, a máxima contração muscular produzida por uma estimulação direta dos axônios motores espinais (PIERROT-DESEILLIGNY & MAZEVET, 2000). O desaparecimento da resposta H após a obtenção da máxima amplitude deve-se ao efeito da colisão antidrômica. Neste mecanismo, o impulso elétrico de alta intensidade produz potenciais que seguem no sentido antidrômico e colidem com os impulsos ortodrômicos, ou seja, os potenciais induzidos pela ativação direta dos axônios motores bloqueiam os potenciais provenientes das fibras sensitivas Ia que seguem para a medula (CAPADAY, 1997; PALMIERI ; INGERSOLL & HOFFMAN, 2004).

A principal limitação da utilização do reflexo H para avaliação da excitabilidade medular se deve ao fato de que a conexão sináptica entre os aferentes Ia e o α -MN estão sujeitos a modificações pré-sinápticas. A inibição pré-sináptica pode alterar a quantidade de neurotransmissores liberados e, conseqüentemente, a amplitude do reflexo H sem que nenhuma alteração do potencial de membrana e do potencial de condução seja observado (PALMIERI ; INGERSOLL & HOFFMAN, 2004).



Figura 5 - Curva de recrutamento para o reflexo H e onda M. Linha contendo triângulos como ápice apontados para cima representam as respostas para a onda H e a linha contendo os triângulos com o ápice voltado para baixo representam as respostas para a onda M. Fonte: o autor.

3.2.2 Onda F

A onda F consiste de um potencial de ação composto pela estimulação supra-máxima antidrômica de um nervo motor. O circuito para a onda F envolve a excitação antidrômica de todos os axônios motores estimulados, estes, geram um potencial de ação que chega até a

medula espinal ativando uma porção pequena de neurônios motores de grosso calibre no corno anterior da medula. A partir desta ativação, um potencial da ação segue em direção ao músculo (onda F). Além dos neurônios motores, o circuito da onda F também envolve mecanismos inibitórios pelas células de Renshaw (EISEN & FISHER, 1999).

A amplitude da onda F corresponde a menos que 5% do registro da onda M. Esta pequena amplitude é reflexo do número limitado de neurônios motores no corno anterior da medula que foram reativados com o estímulo (EISEN & FISHER, 1999). A avaliação da onda F é especialmente útil na avaliação de músculos proximais e encontra-se aumentada em pacientes com lesão de neurônio motor superior. Outra aparente vantagem é que sua captação não necessita do componente sensitivo do nervo espinal. Dentre as limitações destacam-se a pequena sensibilidade para avaliar a excitabilidade do motoneurônio alfa e a geração de estímulos dolorosos (MCNEIL *et al.*, 2013).

3.2.3 Depressão pós-ativação (DPa)

Quando uma série de estímulos elétricos são aplicados sobre um arco reflexo a um intervalo menor que três segundos entre os estímulos, ocorre um fenômeno denominado de depressão pós-ativação (DPa) ou depressão homossináptica. Esta inibição da resposta do reflexo-H condicionado é induzida por um estímulo elétrico prévio e tem sido atribuída a alterações na liberação de neurotransmissores na sinapse entre a fibra sensitiva (Ia) e o motoneurônio alfa por fibras ativadas previamente (WINKLER *et al.*, 2010).

Outra possível explicação para a depressão pós-ativação é a co-ativação de neurônios motores da musculatura antagonista e músculos próximos. A ativação dos músculos antagonistas promove mudanças na transmissão das fibras Ia que realizam uma inibição recíproca dos núcleos motores dos músculos agonistas (PIERROT-DESEILLIGNY & MAZEVET, 2000; TROMPETTO *et al.*, 2014).

A depressão pós-ativação tem sido utilizada como uma medida para mensurar a capacidade de recuperação e da plasticidade da medula. Em indivíduos saudáveis, esta inibição parece estar associada a mudanças plásticas nos circuitos medulares relacionados ao aprendizado de uma nova tarefa motora (PEREZ *et al.*, 2005; LUNGHOLT & NIELSEN, 2005a; MAZZOCCHIO *et al.*, 2006).

Em indivíduos com lesão do neurônio motor superior ou interrupção de vias medulares, a DPa encontra-se diminuída devido a déficits na modulação pré-sináptica nos neurônios motores espinais, o que provoca um aumento das respostas motoras mesmo após um estímulo precedente. Estas alterações estão relacionadas à diminuição da inibição GABAérgica e excitação das vias monoaminérgicas (serotonina e noradrenalina) na rede de interneurônios espinais (JANKOWSKA, 2001).

3.2.4 Reflexo de retirada da perna (RRP)

O RRP consiste de um reflexo espinal polissináptico e multissegmentar de flexão do membro inferior em resposta a uma estimulação nociceptiva. Este reflexo é mediado por fibras nociceptivas do tipo A-delta e sofre fortes influências do controle das estruturas suprasegmentares do sistema nervoso central. Suas variáveis são associadas ao limiar de dor (limiar reflexo) e nível de percepção da dor mensurado pela área ou amplitude do reflexo de retirada da perna (SANDRINI *et al.*, 2005).

Participam do arco reflexo do RRP uma complexa rede de interneurônios, incluindo neurônios multireceptivos e neurônios de ampla faixa dinâmica que integram comandos descendentes, estímulos de feedback multissensorial periféricos e projeções eferentes para os motoneurônios (BURKE, 1999; COGIAMANIAN *et al.*, 2011). A modulação química do RRP é realizada por meio da liberação de alguns neurotransmissores pelas fibras descendentes, ascendentes e interneurônios espinais, tais como o ácido gama-aminobutírico (GABA), dopamina, noraepinefrina, serotonina (5-HT) e glutamato (COGIAMANIAN *et al.*, 2011).

O Reflexo de retirada da perna tem sido utilizado como marcador eletrofisiológico nos estudos com avaliação da excitabilidade medular e percepção dolorosa (RHUDY & FRANCE, 2007). O RRP é composto por dois componentes principais: o componente RII, correspondente aos registros eletromiográficos de menor latência (60 - 90 ms) após uma estimulação tátil, e o componente RIII, registro de maior latência (90 - 150 ms) correspondente a sensibilidade nociceptiva (COGIAMANIAN *et al.*, 2011).

Os protocolos utilizados para avaliação do RRP utilizam, em sua maioria, uma série de estímulos com 1ms de duração e de intensidade crescente, aplicados na região retromaleolar a uma frequência de 200-250 Hz e intervalos entre os estímulos de pelos menos 10 segundos (NEZIRI *et al.*, 2010). Embora seja um reflexo amplamente utilizado na pesquisa, o RRP

apresenta como principal limitação a grande variedade de estímulos centrais e periféricos que podem influenciar a integração espacial e temporal na medula. Além disso, o RRP é um reflexo influenciado por componentes subjetivos de difícil controle, tais como nível de ansiedade e atenção durante a avaliação. A avaliação de registros periféricos provenientes da ativação de fibras A-delta talvez não seja suficiente para contemplar a avaliação de todo arco reflexo (RHUDY & FRANCE, 2007).

Estimulação não invasiva do sistema nervoso central

As técnicas de estimulação não invasivas do sistema nervoso central consistem de ferramentas de neuroestimulação e neuromodulação que se baseiam nos princípios da indução eletromagnética ou por alterações dos potenciais de membrana devido à exposição a uma corrente elétrica. No primeiro grupo, encontram-se a estimulação magnética transcraniana repetitiva (EMTr), estimulação por Theta burst contínuo (TBSc), estimulação por Theta Burst intermitente (TBSi) e estimulação magnética quadripulso (EMQP). No segundo grupo, destacam-se a ETCC, ETMCC e a estimulação cerebelar por corrente contínua (ECCc) e a estimulação transcraniana por corrente alternada (ETCA) (LEFAUCHEUR *et al.*, 2014; PRIORI *et al.*, 2014).

Nas seções a seguir encontram-se descritos os conceitos, mecanismos de ação, critérios de segurança e evidências das duas técnicas de estimulação não invasivas mais utilizadas para modular a excitabilidade medular de humanos, a EMTr e a ETMCC.

3.3. Estimulação magnética transcraniana (EMT)

3.3.1 Conceitos

A estimulação magnética transcraniana (EMT) consiste de uma técnica de estimulação não-invasiva do córtex cerebral. Os primeiros relatos do uso da EMT datam de 1985, quando Barker e colaboradores (1985) demonstraram que um único pulso aplicado sobre o córtex motor primário (M1) foi capaz de evocar respostas musculares captadas por eletromiografia de superfície (BARKER ; JALINOUS & FREESTON, 1985; GROPPA *et al.*, 2012). Estas respostas ficaram conhecidas como “potencial evocado motor” e passaram a ser adotadas amplamente para avaliação da via corticoespinal e corticobulbar nos estudos de neurofisiologia com indivíduos saudáveis e com patologias do sistema nervoso central (CHEN *et al.*, 2008; ROSSI *et al.*, 2009).

A forma como a EMT é aplicada varia de acordo com objetivo da estimulação. Quando entregue por meio de um pulso único (EMT-p) ou por pares de pulsos com intervalos interestímulo pré-determinados (EMT-pp) a estimulação pode ser utilizada para fins de diagnóstico de distúrbios relacionados a inibição e excitação do trato corticoespinal ou dos circuitos intracorticais, respectivamente (CONFORTO *et al.*, 2003). E quando aplicada sobre de forma repetitiva (EMTr) a estimulação pode ser utilizada para fins terapêuticos. Dentre as medidas obtidas pela liberação de uma série de EMT-p estão o potencial evocado motor (PEM), limiar motor de repouso (LMR) ou ativo (LMA), tempo de condução central e a curva de recrutamento (CONFORTO *et al.*, 2003).

Por meio do EMT-p é possível estabelecer o limiar motor de repouso (LMR), que corresponde à menor intensidade de estímulo necessário para evocar um potencial evocado de amplitude mínima de $50\mu\text{V}$, em pelo menos cinco de 10 pulsos administrados (CONFORTO *et al.*, 2003; HALLETT, 2007). O LMR representa uma medida da excitabilidade da membrana dos neurônios do trato corticoespinal, portanto, quando maior a excitabilidade do LMR menor a excitabilidade neuronal (BROWN *et al.*, 2014).

A partir do estabelecimento do LMR, é possível evocar respostas musculares captadas pelo eletromiógrafo de superfície por meio da liberação de estímulos com intensidade superior ao LMR. Estas respostas são conhecidas como potencial evocado motor (PEM) e traduzem o grau de excitabilidade do trato corticoespinal, sendo diretamente influenciadas pela intensidade da estimulação e pelo grau de contração muscular no momento pré-ativação (HALLETT, 2007). O PEM pode ser mensurado por meio da média de uma série de estímulos ou por meio da curva de recrutamento. A curva de recrutamento reflete o aumento da amplitude do PEM à medida em que a intensidade da EMT é elevada progressivamente. Por meio desta medida é possível verificar a ativação progressiva de neurônios menos excitáveis ou mais distantes do centro de ativação da EMT, *hotspot* (CHEN, 2000).

Também por meio do PEM é possível avaliar o tempo de condução central, este, corresponde ao tempo de condução do impulso nervoso do córtex até o motoneurônio alfa na medula. Esta medida contém o tempo de condução nas vias motoras centrais, o tempo de transmissão sináptica a nível espinal e o tempo de condução na parte distal da raiz motora (ROSSINI *et al.*, 2015).

Na modalidade de pares de pulsos (EMT-pp), a intensidade do primeiro pulso geralmente situa-se abaixo do LMR e a do segundo, acima do mesmo (CONFORTO *et al.*, 2003). Quando administrados com intervalos inferiores a seis milissegundos entre eles a EMT-pp avalia as redes inibitórias intracorticais mediadas pelo ácido gama-aminobutírico (GABA_A), este fenômeno é conhecido como inibição intracortical (IIC). O aumento do intervalo entre os pulsos, geralmente intervalos entre 10-20 ms, permite a avaliação da facilitação intracortical (FIC). Esta última é decorrente do aumento da transmissão das sinápticas glutamatérgicas na rede de neurônios corticais (NAKAMURA *et al.*, 1997).

A estimulação magnética transcraniana repetitiva (EMTr) consiste da aplicação de uma série de trens de estímulo com intervalos curtos. A EMTr possui um efeito modulatório na excitabilidade cortical de áreas motoras e não motoras que permanecem ao menos por uma hora após o término da estimulação (ROSSINI *et al.*, 2015). Os efeitos modulatórios da EMTr são dependentes da frequência, intensidade e duração dos pulsos (SADOWSKI, 2008). Estudos que avaliaram a excitabilidade do córtex motor após a estimulação repetitiva demonstraram que quando a EMTr é aplicada por meio de pulsos de baixa frequência ($\leq 1\text{Hz}$) ocorre uma diminuição da excitabilidade cortical, enquanto que frequências mais altas (em geral $\geq 5\text{Hz}$) induzem ao aumento da excitabilidade cortical (SADOWSKI, 2008; ROSSINI *et al.*, 2015).

Uma revisão sistemática dos estudos que avaliaram os efeitos da EMTr sobre a excitabilidade do córtex motor reportou que a maioria dos estudos com EMTr de alta frequência utilizou uma frequência de estimulação entre 2 e 20 Hz e foram capazes de induzir aumento significativo e persistente do potencial evocado motor (FITZGERALD ; FOUNTAIN & DASKALAKIS, 2006) e em sujeitos saudáveis a EMTr alta foi capaz de diminuir a inibição intracortical avaliada por EMT-pp (PEINEMANN *et al.*, 2004). Dentre os estudos que utilizaram a EMTr de baixa frequência, a maior parte dos estudos utilizou a frequência de 1 Hz e uma duração de estimulação entre 10 a 20 minutos. Esta revisão concluiu que existe uma evidência de qualidade moderada do efeito da EMTr 1Hz na diminuição da excitabilidade do córtex motor primário (FITZGERALD ; FOUNTAIN & DASKALAKIS, 2006).

Embora a escolha dos parâmetros de estimulação e a área a ser estimulada variem de acordo com os objetivos terapêuticos e condição basal dos indivíduos (nível de pré-ativação cortical), de modo geral, os estudos utilizam uma intensidade de estimulação correspondente a 85% a 90% do LMR e um número de pulsos entre 600 a 3000 (FITZGERALD ; FOUNTAIN & DASKALAKIS, 2006; ROSSI *et al.*, 2009). Além do córtex motor, o córtex pré-motor,

motor suplementar e frontal são áreas frequentemente escolhidas como local de estimulação. Adicionalmente, a EMTr geralmente é liberada por meio de estímulos bifásicos por necessitar de menor energia do capacitor e por produzir respostas de potenciais evocados maiores do que a estimulação por pulso monofásico (FITZGERALD ; FOUNTAIN & DASKALAKIS, 2006; SOMMER *et al.*, 2006).

Devido à sua capacidade neuromodulatória e por promover mecanismos de neuroplasticidade favoráveis à reabilitação, a EMTr tem sido utilizada como ferramenta terapêutica na reabilitação de diversas patologias do sistema nervoso como o acidente vascular cerebral (CORTI ; PATTEN & TRIGGS, 2012), doença de Parkinson (SIEBNER *et al.*, 2000; LEFAUCHEUR *et al.*, 2004), Doença de Huntington (BRUSA *et al.*, 2005), esclerose múltipla (CENTONZE *et al.*, 2007), lesão medular (NARDONE *et al.*, 2015) e distúrbios psiquiátricos (LEFAUCHEUR *et al.*, 2014).

3.3.2 Mecanismo de ação

Os efeitos da EMT nos neurônios corticais ocorrem por meio do fenômeno de indução eletromagnética. O equipamento utilizado na EMT consiste de uma bobina conectada a um estimulador que contem no seu interior um circuito de alta voltagem 400V-3JV e alta intensidade (4kA - 20 kA). Durante a estimulação, o estimulador é descarregado rapidamente produzindo um campo magnético transmitido pela bobina com uma força 1 a 2,5 T e duração inferior de cerca de 1 ms (GROPPA *et al.*, 2012).

Quando posicionada perpendicularmente à cabeça, a bobina transmite um campo magnético que penetra no crânio e induz um fluxo de corrente iônica secundária no tecido cerebral. Esta corrente possui uma direção perpendicular ao campo magnético (paralelo à bobina) e, devido à resistência dos tecidos neurais, atinge uma profundidade de aproximadamente 1,5 a 2 cm no córtex cerebral (CONFORTO *et al.*, 2003). A distribuição do campo elétrico nos tecidos intracranianos não é homogênea uma vez que estes tecidos apresentam diferentes propriedades de condutividade elétrica (YANG *et al.*, 2006).

O campo elétrico resultante da estimulação magnética altera os potenciais de membrana das células neurais subjacentes a bobina, deflagrando os potenciais de ação, potenciais pós-sinápticos inibitórios ou potenciais pós-sinápticos excitatórios. Mais especificamente pela ativação dos interneurônios corticais pela EMT, como os neurônios piramidais das camadas II e III do córtex motor primário, que fazem sinapses com neurônios do trato corticoespinal

localizados na V camada do cortical de onde assumem um trajeto descendente até o segmento medular, ver figura 6 (BROWN *et al.*, 2014). A magnitude desta despolarização é dependente da intensidade do campo elétrico induzido pela EMT no córtex cerebral. Logo, quanto maior a saída do estimulador, maior será a extensão da despolarização de membranas celulares e, conseqüentemente, maior a área de ativação neuronal (CONFORTO *et al.*, 2003).

Além da intensidade de saída do estimulador, outros fatores como tipo e angulação da bobina, frequência e duração da estimulação, área cortical estimulada e nível de pré-ativação dos circuitos neurais podem influenciar os efeitos da EMT (KOBAYASHI & PASCUAL-LEONE, 2003; LEFAUCHEUR *et al.*, 2014).

Adicionalmente aos efeitos imediatos obtidos pela despolarização dos neurônios piramidais a estimulação magnética transcraniana, quando feita de forma repetitiva, pode induzir mudanças duradouras na atividade cortical. Este efeito é decorrente da ativação de mecanismos de facilitação ou inibição dependentes da estimulação, particularmente da frequência da estimulação (PASCUAL-LEONE *et al.*, 1994; MAEDA *et al.*, 2000). Estimulações magnéticas de baixa frequência (1 Hz) diminuem a excitabilidade do córtex, enquanto que a EMTr de alta frequência ($\geq 5\text{Hz}$) promovem um aumento temporário da excitabilidade (KOBAYASHI & PASCUAL-LEONE, 2003).

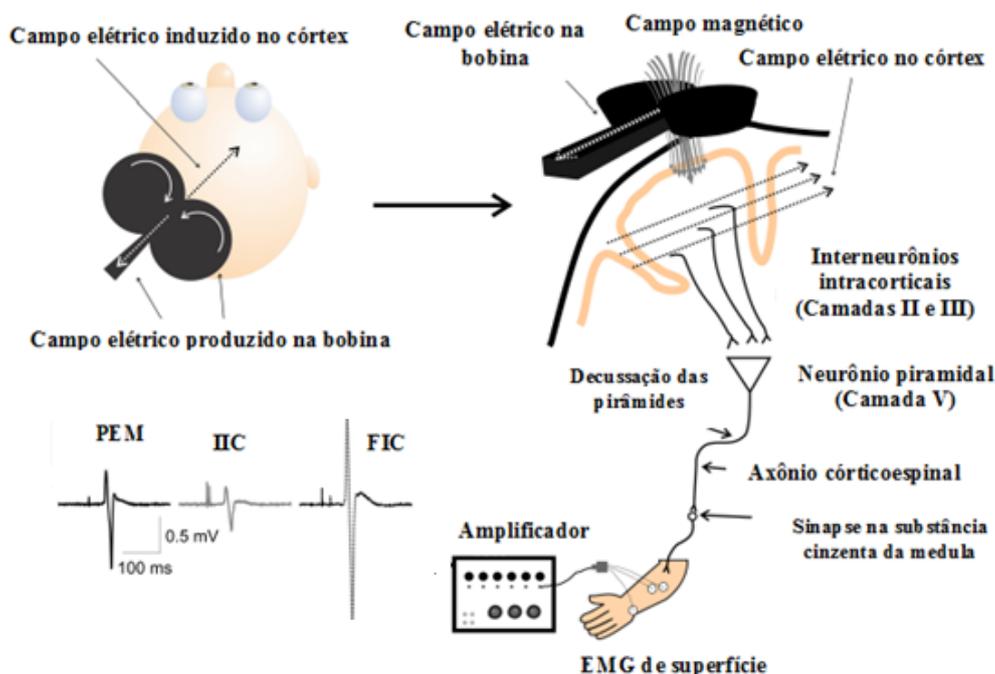


Figura 6 - Representação esquemática da estimulação magnética transcraniana. PEM: potencial evocado motor; IIC: inibição intracortical; FIC: facilitação intracortical. Fonte: adaptado de BROWN *et al.*, 2014.

Os mecanismos envolvidos na modulação da atividade cortical pela EMTr ainda não estão totalmente esclarecidos. No entanto, estudos recentes relacionaram as respostas da EMTr à alteração da eficácia sináptica nos circuitos neurais corticais induzindo mecanismos de plasticidade neural semelhantes aos potenciais de longa duração (do inglês, *Long-term potentiation* - LTP) e depressão de longa duração (do inglês, *Long-term depression* - LTD) (WASSERMANN & ZIMMERMANN, 2012; LEFAUCHEUR *et al.*, 2014).

Embora os efeitos da EMTr sobre os circuitos medulares ainda sejam pouco conhecidos, estudos com seres humanos demonstram que as mudanças na excitabilidade medular induzidas pela EMTr são mediadas por alterações da inibição pré-sináptica nos terminais aferentes das fibras Ia (BERARDELLI *et al.*, 1998; PEREZ ; LUNGHOLT & NIELSEN, 2005a). Deste modo a EMTr ativa neurônios do trato piramidal que exercem influências diretas e indiretas (não monossinápticas) com os neurônios motores medulares (PETERSEN ; PYNDT & NIELSEN, 2003). Portanto, a EMTr pode modificar a transmissão nos circuitos neurais não apenas do córtex, mas também em estruturas profundas como os núcleos da base e medula

espinal por meio de projeções corticais para estas estruturas (PEREZ ; LUNGHOLT & NIELSEN, 2005a).

3.3.3 Evidências da EMTr para modulação da excitabilidade medular em humanos

O efeito da estimulação de um protocolo de EMTr com frequência de 5Hz sobre as respostas do reflexo H e do potencial evocado motor condicionados foram reportados por Berardelli e colaboradores (1998). Os autores demonstram que a estimulação de alta frequência sobre o córtex motor aumentou significativamente os valores de PEM e reduziu a amplitude do reflexo H em até 900 ms após a estimulação. Estes resultados demonstraram pela primeira vez que o aumento da excitabilidade cortical induz uma redução da excitabilidade medular pelo aumento da inibição pré-sináptica nos terminais aferentes Ia do segmento medular (BERARDELLI *et al.*, 1998).

Adicionalmente aos estudos de Berardelli (1998), Perez e colaboradores (2005) investigaram os efeitos da EMTr (5Hz) em circuitos neurais relacionados a inibição pré-sináptica induzida pela EMTr sobre os arcos reflexos medulares em sujeitos saudáveis. Os autores demonstraram que a estimulação de alta frequência foi capaz de aumentar o PEM e induzir um aumento da inibição pré-sináptica no segmento medular. Para verificar quais circuitos espinais foram modificados pela EMTr os pesquisadores avaliaram a amplitude do reflexo H do músculo sóleo após um estímulo condicionado no nervo femoral (facilitação monossináptica), após a estimulação do nervo fibular (depressão de longa-duração) e durante a estimulação simultânea do nervo fibular comum (inibição dissináptica recíproca das fibras Ia). O estudo demonstrou que a diminuição da facilitação monossináptica e o aumento da depressão de longa duração foram os principais mecanismos responsáveis pela inibição pré-sináptica induzida pela EMTr (PEREZ ; LUNGHOLT & NIELSEN, 2005a).

Valero-Cabré e colaboradores (2001) reportaram uma redução do limiar e aumento da amplitude do reflexo H em sujeitos saudáveis submetidos à EMTr de baixa frequência quando comparados ao grupo exposto à estimulação *sham*. Estes resultados foram atribuídos à capacidade de uma estimulação sublimiar de baixa frequência de reduzir a excitabilidade do córtex motor primário e, conseqüentemente, aumentar a facilitação tônica das projeções corticoespinais sobre os circuitos sensório-motores espinais. Os autores atribuíram à redução

da inibição pré-sináptica exercida pelas projeções corticais sobre os aferentes Ia como o principal mecanismo responsável pelo aumento da atividade reflexa segmentar (VALERO-CABRÉ *et al.*, 2001).

Contrariamente, Touge e colaboradores (2001) reportaram não haver alterações nos parâmetros do reflexo H após uma sessão de EMTr de baixa frequência mesmo quando em condições nas quais houve redução do PEM. Os autores atribuíram a redução do PEM às alterações locais entre os neurônios do córtex motor sem que houvesse ação direta sobre os neurônios motores espinais (TOUGE *et al.*, 2001). Resultados semelhantes foram reportados por Taube e colaboradores (2015) em estudo com 22 sujeitos saudáveis submetidos a EMTr de 1Hz com intensidades que variaram entre 120% a 150% do LMR. O estudo demonstrou que a EMTr de baixa frequência aplicada sobre o córtex motor primário com intensidade supralimiar foi capaz de reduzir significativamente o PEM e o potencial cérvico-bulbar sem que houvesse alteração da curva de recrutamento para o reflexo H. A diminuição dos potenciais foi atribuída exclusivamente às mudanças nos circuitos corticais e nas sinapses na região cérvico-bulbar sem que houvesse alteração da excitabilidade dos neurônios motores espinais (TAUBE *et al.*, 2015).

Baseando-se nos resultados obtidos em experimentos com sujeitos saudáveis, Kumru e colaboradores (2010) avaliaram os efeitos de um protocolo de cinco sessões contendo EMTr de alta frequência (20Hz) sobre a espasticidade, número de espasmos e excitabilidade medular de 14 pacientes com lesão medular incompleta. O estudo constatou que houve diminuição da espasticidade e do número de espasmos por um período de até sete dias após o término da estimulação, no entanto, não houve alteração da excitabilidade medular avaliada pelo reflexo H, reflexo de percussão (reflexo T) e reflexo de retirada da perna. Os autores atribuíram a ausência de alterações nos desfechos medulares ao uso de medicações antiespasmódicas pelos voluntários e a baixa intensidade da estimulação (90% do limiar de repouso) empregada no protocolo de EMTr (KUMRU *et al.*, 2010).

Além dos resultados obtidos com os pacientes com lesão medular incompleta, os efeitos da EMTr sobre a excitabilidade dos circuitos medulares e recuperação sensório-motora também foram investigados em indivíduos com sequelas de acidente vascular cerebral (TERREAUX *et al.*, 2014; RASTGOO *et al.*, 2016). Terreaux e colaboradores (2014) reportaram os resultados preliminares de um estudo experimental contendo cinco sessões de estimulação de alta (10Hz) ou baixa (1 Hz) frequências aplicadas sobre o córtex pré-motor ipsilateral à lesão em cinco voluntários com sequelas de AVC. A região cortical estimulada no estudo possui uma íntima

conexão com circuitos inibitórios da formação reticular e quando exposta a estimulação repetitiva de baixa frequência foi capaz de reduzir as respostas do reflexo H e do reflexo T (resposta reflexa à percussão tendínea). Adicionalmente, a EMTr 1Hz induziu à melhora clínica (diminuição da hiperextensão do joelho), no entanto, nenhuma alteração funcional ou dos parâmetros eletrofisiológicos foi vista após a EMTr de alta frequência (TERREAUX *et al.*, 2014).

Rastgoo e colaboradores (2016) avaliaram os efeitos de cinco sessões de EMTr de baixa frequência (1Hz) sobre a excitabilidade medular e recuperação sensório-motora de pacientes com sequelas de acidente vascular cerebral. O estudo reportou uma redução da espasticidade e aumento da recuperação sensório-motora nos pacientes que realizaram a estimulação ativa por um período de uma semana, no entanto, não constatou alteração da excitabilidade espinal avaliada pelo reflexo H. A ausência de modificações na excitabilidade medular foi atribuída a ausência da ativação de projeções corticoespinais diretas pela estimulação em uma área cortical contralateral, ao perfil de pacientes incluídos no estudo (grau de espasticidade leve) e às perdas de pacientes durante o experimento (RASTGOO *et al.*, 2016).

De modo geral, os estudos que avaliaram os efeitos da EMTr sobre a excitabilidade medular apresentam divergências quanto aos parâmetros de estimulação, áreas corticais estimuladas e populações, ver tabela 1. Os experimentos com sujeitos saudáveis sugerem uma diminuição da atividade reflexa medular após a EMTr de alta frequência (BERARDELLI *et al.*, 1998; PEREZ ; LUNGHOLT & NIELSEN, 2005a) e um aumento da excitabilidade espinal após a estimulação de baixa frequência (VALERO-CABRÉ *et al.*, 2001). Esta última modalidade, ainda carece de evidências quanto aos seus reais efeitos uma vez que dois estudos (TOUGE *et al.*, 2001; TAUBE *et al.*, 2015) não reportaram modificações da excitabilidade medular.

Os estudos que avaliaram os efeitos da EMTr sobre excitabilidade medular em pacientes incluíram indivíduos com sequelas de acidente vascular cerebral (TERREAUX *et al.*, 2014; RASTGOO *et al.*, 2016) e lesão medular incompleta (KUMRU *et al.*, 2010) e divergem quanto aos protocolos e locais de estimulação. Embora a maioria dos estudos com pacientes demonstrou melhora clínica no período posterior à estimulação, nenhuma alteração das medidas eletrofisiológicas das medidas de excitabilidade medular foi reportada após a EMTr de alta frequência (KUMRU *et al.*, 2010; TERREAUX *et al.*, 2014) e de baixa frequência (RASTGOO *et al.*, 2016).

Tabela 1. A Caracterização e principais resultados dos estudos que avaliaram os efeitos da estimulação magnética transcraniana repetitiva (EMTr) sobre a excitabilidade medular de sujeitos saudáveis e com patologias do sistema nervoso.

Autor/ano	Sujeitos saudáveis	Pacientes	Área estimulada	Protocolo da EMTr	Desfecho	Resultado
Berardelli et al., 1998	13	—	Córtex motor primário	Frequência: 5 Hz Trens com 20 pulsos Intensidade: 110% do LMR Intervalo: 60 minutos Duração: não informado	Reflexo H condicionado Potencial evocado motor condicionado	A área do reflexo H reduziu significativamente em até 900 ms após o trem de estímulos. O PEM aumentou progressivamente e permaneceu por até 600 ms.
Valero-Cabré et al., 2001	10	-	Córtex motor primário	Frequência: 1 Hz Número de pulsos: 600 Intensidade: 90% do LMR Duração: 10 minutos	Reflexo H	Redução do limiar e aumento da amplitude do reflexo H. Aumento da razão H/M sem alterações nos parâmetros da onda M.
Touge et al., 2001	13	—	Córtex motor primário	Frequência: 1 Hz Número de pulsos: 1500	Reflexo H Potencial evocado motor	A EMTr de baixa frequência reduziu a amplitude do PEM até 30 minutos após a

			Intensidade: 95% do LMR		estimulação, mas não alterou os parâmetros do reflexo H.	
			Duração: 25 minutos			
Perez et al., 2005	10	—	Córtex motor primário	<p>Frequência: 5 Hz</p> <p>15 trens com 20 pulsos</p> <p>Intensidade: 75 a 120% do LMR</p> <p>Intervalo: 10 segundos</p> <p>Duração: não informado</p>	<p>Reflexo H</p> <p>Inibição pré-sináptica (nervo fibular)</p> <p>Facilitação monossináptica (nervo femoral)</p> <p>Inibição recíproca dissináptica</p> <p>Potencial evocado motor</p> <p>Potencial cérvico-bulbar</p>	<p>A EMTr reduziu a amplitude do reflexo H quando foram empregadas saídas do estimulador entre 92% e 120% do LMR. A estimulação aumentou o nível de inibição pré-sináptica das fibras Ia sem alterar a inibição dissináptica recíproca.</p> <p>A EMTr facilitou o potencial evocado motor condicionado (200 ms) de M1 e do componente cérvico-bulbar.</p>

LMR: limiar motor de repouso; PEM: potencial evocado motor; EMTr: estimulação magnética transcraniana repetitiva; M1: córtex motor primário.

Tabela 1. Continuação

Kumru et al., 2010	–	14 Lesão medular incompleta	Córtex motor primário	Frequência: 20 Hz 20 trens com 40 pulsos Intensidade: 90% do LMR Intervalo: 28 segundos Duração: 20 minutos	Reflexo H Reflexo T Reflexo de retirada da perna Escala de Ashworth Escala Visual Analógica	A EMTr reduziu a espasticidade e o número de espasmos nos pacientes com lesão medular incompleta por até sete dias, mas não houve alteração das medidas eletrofisiológicas.
Terreaux et al., 2014	–	05 Acidente vascular cerebral	Córtex pré-motor	Frequência: 10 Hz 20 trens (5s) Intensidade: 100% do LMR Intervalo: 45 segundos Duração: 17 minutos Frequência: 1 Hz Número de pulsos: 1000	Reflexo H Reflexo T Análise da marcha Fulg-Meyer Escala de Ashworth	Apenas a EMTr de baixa frequência promoveu melhora clínica sutil (diminuição da hiperextensão do joelho) em pacientes com AVC crônico, mas não modificou o grau de espasticidade. A EMTr de 1Hz diminuiu as respostas do reflexo H e reflexo T.

				Intensidade: 90% do LMR		
				Duração: 17 minutos		
Taube et al., 2015	22	—	Córtex motor primário	Frequência: 1 Hz Número de pulsos: 1200 Intensidade: 120% do LMR Duração: 20 minutos	Reflexo H Potencial evocado motor Reflexo H condicionado por TMS em M1 e na junção cérvico-bulbar	Houve redução do PEM, mas sem alteração da curva de recrutamento do reflexo H. A EMTr diminuiu a facilitação do reflexo H após estímulo condicionado em M1 e na junção cérvico-bulbar.
Rastgoo et al., 2016	—	14 Acidente vascular cerebral	Córtex motor primário (contralateral)	Frequência: 1 Hz Número de sessões: 5 Número de pulsos: 1000 Intensidade: 90% do LMR Duração: 20 minutos	Reflexo H Escalda de Ashworth Fulg-Meyer Time UP and GO	A EMTr induziu diminuição da espasticidade e aumento da recuperação sensório-motora até sete dias, mas não houve alteração da excitabilidade medular (reflexo H).

LMR: limiar motor de repouso; PEM: potencial evocado motor; EMTr: estimulação magnética transcraniana repetitiva; M1: córtex motor primário.

3.3.4 Critérios de segurança

Revisões sistemáticas recentes (MACHII *et al.*, 2006; LOO ; MCFARQUHAR & MITCHELL, 2008; JANICAK & DOKUCU, 2015) e o *guideline* adotado pela Federação Internacional de Neurofisiologia Clínica (ROSSI *et al.*, 2009) sobre os critérios de segurança para aplicação da EMT em seres humanos sugerem que a EMT é uma técnica segura e indolor para o uso clínico e na pesquisa. Os efeitos adversos reportados por estudos experimentais ocorreram após aplicação da modalidade repetitiva e são, em sua maioria, de rara prevalência e caráter transitório e (MACHII *et al.*, 2006).

Dentre os possíveis efeitos adversos produzidos pela EMT destacam-se: i – aparecimento de ruídos auditivos ou tinnitus no período após a estimulação (efeito mais reportado por pacientes pediátricos); ii – crise convulsiva, considerado o evento de maior gravidade entre os efeitos adversos da EMT, os poucos casos reportados aconteceram, em sua maioria, no período anterior a publicação dos critérios de segurança e ocorreram apenas para os casos onde foi utilizada a modalidade repetitiva (EMTr). Segundo a Federação Internacional de Neurofisiologia Clínica a EMT pode elevar em até 1% o risco de crises convulsiva em indivíduos saudáveis; iii – síncope, evento associado à ansiedade durante à estimulação; iv – cefaleia, é o efeito adverso mais comumente reportado entre os indivíduos expostos à EMTr e v – alterações de humor, cansaço e dificuldade de concentração, sintomas transitórios e muito raros (MACHII *et al.*, 2006; ROSSI *et al.*, 2009).

Para evitar os efeitos adversos supracitados recomenda-se a observação do estado físico do paciente, fase da doença e/ou presença de outras condições favoráveis à indução de atividade epileptogênica, como a interação com outras técnicas de estimulação não-invasiva do sistema nervoso central e uso de medicações ou substâncias psicoativas. Embora não haja contraindicação absoluta para o uso da EMT em grupos especiais, como crianças e gestantes, algumas precauções devem ser tomadas para garantir a segurança dos voluntários. Em pacientes pediátricos, é necessário considerar o estágio de maturidade cerebral, o período crítico para fechamento do canal auditivo externo (dois primeiros anos) e o período para fechamento das fontanelas. Em gestantes, deve-se avaliar os riscos e benefícios de forma mais cautelosa antes realizar a aplicação da EMT, não sendo recomendado à estimulação nas oito primeiras semanas de gestação, fase considerada crítica para o desenvolvimento do sistema nervoso fetal (ROSSI *et al.*, 2009; ROSSINI *et al.*, 2015).

Outro aspecto a ser observado é a presença de implantes metálicos no crânio. Em condições fisiológicas o aquecimento dos tecidos cerebrais induzido pela EMT é inferior a 0,1° C, este, é ainda menor em áreas corticais lesionadas que apresentam menor fluxo sanguíneo. Apesar disto, a corrente da EMT pode se acumular em torno de eletrodos ou implantes metálicos (como clips de aneurismas, por exemplo) e provocar aquecimento nos tecidos circundantes capaz de provocar lesão tecidual. O campo magnético gerado pela EMT também exerce uma força de atração para objetos metálicos podendo desloca-los ou desmagnetiza-los, a exemplo dos implantes cocleares (ROSSI *et al.*, 2009).

Em relação aos riscos ocupacionais referentes à exposição dos operadores/terapeutas e dos pacientes ao campo gerado pela EMT, a Comissão Internacional de Proteção a Radiação Não-ionizante (CIPRN) considera que o campo magnético induzido é cerca de 100 vezes inferior aos limites de exposição necessários para causar malefícios à saúde devido a exposição acumulativa (BRADLEY *et al.*, 2007).

No que diz respeito aos parâmetros de estimulação utilizados na EMTr, como critério de segurança recomenda-se a adoção de uma intensidade de estimulação entre 90% a 130% do limiar motor de repouso para a EMTr, com intervalos entre os trens de pelo menos cinco segundos e com número de pulsos e duração da estimulação ajustados de acordo com a frequência de estimulação (ROSSI *et al.*, 2009).

3.4 Estimulação transmedular por corrente contínua (ETMCC)

3.4.1 Histórico

O conhecimento de que a medula é sensível a correntes polarizadas é proveniente de pesquisas conduzidas há cerca de 55 anos quando Eccles e colaboradores em 1962 descreveram os efeitos de uma corrente polarizada e de baixa intensidade sobre o potencial de membrana de fibras aferentes primárias e sinapses excitatórias de motoneurônios de gatos. O estudo concluiu que a corrente direta quando aplicada na direção dorsoventral foi capaz de modificar o a amplitude e o pico do potencial de ação de fibras aferentes primárias, sendo estas alterações dependentes da polaridade dos eletrodos (ECCLES ; KOSTYUK & SCHMIDT, 1962).

A avaliação dos efeitos da aplicação da corrente direta sobre a excitabilidade de circuitos e na capacidade regenerativa de vias medulares também foi objeto de estudos subsequentes que utilizaram modelos animais saudáveis (MARSAN ; FUORTES & MAROSSERO, 1951) e com transecção medular (BORGENS ; ROEDERER & COHEN, 1981; ROEDERER ; GOLDBERG & COHEN, 1983). Estes estudos corroboraram com os resultados apresentados por Eccles e colaboradores (1962) quanto aos efeitos polaridade dependentes da ETMCC, mas adicionaram o conhecimento sobre a propagação longitudinal do campo elétrico induzido ao longo da medula da (MARSAN ; FUORTES & MAROSSERO, 1951). Adicionalmente, a exposição à corrente direta potencializou a regeneração de vias descendentes lesionadas de animais com transecção medular por meio da diminuição do influxo de íons de cálcio intracelular nos axônios de neurônios submetidos a uma corrente direta (BORGENS ; ROEDERER & COHEN, 1981; ROEDERER ; GOLDBERG & COHEN, 1983).

Em seres humanos, a ideia de utilizar da corrente direta de forma transcutânea para modular funções medulares surgiu da observação dos efeitos da corrente direta aplicada sobre o crânio para modular a excitabilidade do córtex motor (PRIORI *et al.*, 1998; NITSCHKE & PAULUS, 2000). Amplamente difundido na literatura, os efeitos da corrente direta sobre o crânio modificam a excitabilidade e taxa de disparo de neurônios localizados no córtex motor primário a depender da intensidade, polaridade e duração da estimulação (NITSCHKE & PAULUS, 2011). A permanência destes efeitos possui como provável explicação a indução de mecanismos de plasticidade neuronal, onde ocorrem mudanças entre as sinapses dos neurônios que compõe os circuitos envolvidos, por meio de mecanismos semelhantes a potenciação de

longa duração (do inglês, LTP) e depressão de longa duração (do inglês, LTD) (LIEBETANZ *et al.*, 2002).

Baseando-se nos resultados obtidos da aplicação da corrente direta sobre o córtex cerebral e nos estudos com montagens sobre a medular em modelos animais, Cogiamanian e colaboradores (2008) foram os primeiros a reportar os efeitos da corrente contínua aplicada de forma transcutânea sobre a condução sensorial de vias medulares de sujeitos saudáveis (COGIAMANIAN *et al.*, 2008). Inicialmente denominada de “estimulação transcutânea medular” e posteriormente de “estimulação transmedular por corrente contínua (ETMCC)”, esta técnica neuromodulatória encontra-se em crescente uso dentre os estudos de neurofisiologia e ensaios clínicos com sujeitos que apresentam condições patológicas do sistema nervoso (HUBLI *et al.*, 2013; PRIORI *et al.*, 2014; GRECCO, 2015).

3.4.2 Conceito

A estimulação transmedular por corrente contínua (ETMCC) é uma técnica neuromodulatória simples, indolor e não invasiva que se baseia na aplicação da corrente direta para modular as vias ascendentes, descendentes e arcos reflexos da medula espinhal (BOCCI *et al.*, 2014; PRIORI *et al.*, 2014). Uma corrente direta de intensidade constante, usualmente entre 1,5 a 2,5 mA, é empregada durante todo o período da estimulação com exceção das rampas ao início e término da estimulação (GRECCO, 2015). A rampa da subida do momento inicial ao ponto de máxima estimulação possui uma duração média de 10 segundos, assim como a rampa de descida ao final da estimulação (GRECCO, 2015).

A corrente é “entregue” por um par de eletrodos envolvidos por esponja e embebidos em solução salina e a polaridade da estimulação (anódica ou catódica) é definida de acordo com a polaridade do eletrodo posicionado sobre o processo espinhoso do segmento medular de interesse (GRECCO, 2015). A ETMCC *sham* (ou fictícia) consiste de uma estimulação que obedece às mesmas configurações das montagens de ETMCC ativas (ETMCC anódica ou ETMCC catódica) durante período igual ou inferior a 90 segundos. Após este período, a estimulação é desligada a fim de que sejam simulados os mesmos efeitos da estimulação real sem que haja neuromodulação das estruturas subjacentes (PRIORI *et al.*, 2014).

O campo elétrico induzido pela ETMCC consiste da passagem da corrente elétrica que tende a fluir do eletrodo ativo para o eletrodo de referência por meio de uma propagação

longitudinal ao longo da medula espinal (PARAZZINI *et al.*, 2014a). Os efeitos da corrente direta podem perdurar de minutos a horas após o término da estimulação sendo bem tolerado pelos indivíduos estimulados (WINKLER ; HERING & STRAUBE, 2010; LAMY *et al.*, 2012; BOCCI *et al.*, 2014).

No que se refere aos parâmetros da ETMCC, não há consenso entre os autores de publicações recentes publicações quanto a intensidade de corrente, duração da estimulação, posição e tamanho do eletrodo. Estudos prévios, que se propuseram a modular a atividade da porção lombar da medula espinal adotaram, na maioria dos casos, uma montagem com o eletrodo ativo (7cm x 5cm) sobre o processo espinho entre a décima e a décima segunda vértebras torácicas com eletrodo de referência posicionado sobre o ombro direito (COGIAMANIAN *et al.*, 2008; COGIAMANIAN *et al.*, 2011; LAMY *et al.*, 2012; BOCCI *et al.*, 2014; PERROTTA *et al.*, 2016). Para a modulação da medula cervical, o eletrodo ativo usualmente é posicionado sobre a sétima vértebra cervical e o de referência sobre a região anterior do pescoço (LIM & SHIN, 2011; DONGÉS *et al.*, 2017). No que diz respeito a intensidade e duração da estimulação a maioria dos estudos utilizou de protocolos com intensidade entre 2 a 2,5 mA durante 15 a 20 minutos (Tabela 2).

3.4.3 Mecanismos de ação

Os efeitos de um campo elétrico nas estruturas neurais da medula espinal são dependentes das propriedades do campo (intensidade, polaridade e direção), das propriedades anatômicas e da fisiológicas da estrutura estimulada (ELBASIOUNY & MUSHAHWAR, 2007). Desta maneira, um mesmo campo elétrico pode aumentar a excitabilidade de um trato espinal da substância branca e diminuir a excitabilidade de elementos neurais da substância cinzenta (PRIORI *et al.*, 2014).

Para compreender os efeitos do campo elétrico gerado pela ETMCC sobre as estruturas medulares é necessário observar as alterações que uma corrente polarizada provoca no potencial de membrana nos axônios das fibras aferentes. Em um modelo de estimulação catódica sobre um feixe nervoso, os ânions (íons negativamente carregados) fluem do polo negativo (cátodo) para o interior dos tecidos por repulsão elétrica. A medida que estes íons fluem do cátodo para o ânodo (polo positivamente carregado), cargas negativas tendem a se acumular na superfície externa da membrana do nervo. Este depósito de cargas negativas torna o ambiente extracelular menos negativo e diminui a diferença de potencial entre o meio intra e extracelular

(hipopolarização) em torno do cátodo. Se esta hipopolarização for de magnitude suficiente ocorrerá a deflagração do potencial de ação e transmissão do impulso nervoso (Figura 7). O processo inverso ocorre quando há um acúmulo de cargas positivas no ambiente extracelular pelo polo positivo (ânodo), aumentando a diferença de potencial (hiperpolarização) e dificultando a propagação do sinal (MERRILL ; BIKSON & JEFFERYS, 2005; VOGEL 2015).

Este mecanismo difere da estimulação elétrica por corrente contínua quando aplicada sobre o crânio, na qual a ETCC anódica exerce uma atração de íons carregados negativamente em direção à superfície em contato com o ânodo (polo positivo), gerando acúmulo de íons carregados positivamente no espaço extracelular próximo às membranas das camadas superficiais do córtex cerebral e o acúmulo de uma segunda camada de íons carregados negativamente nas camadas corticais profundas (camadas piramidais). Esta concentração de íons carregados negativamente em torno das membranas das células piramidais diminui a diferença de potencial de ação, facilitando a despolarização (VOGEL, 2015) .

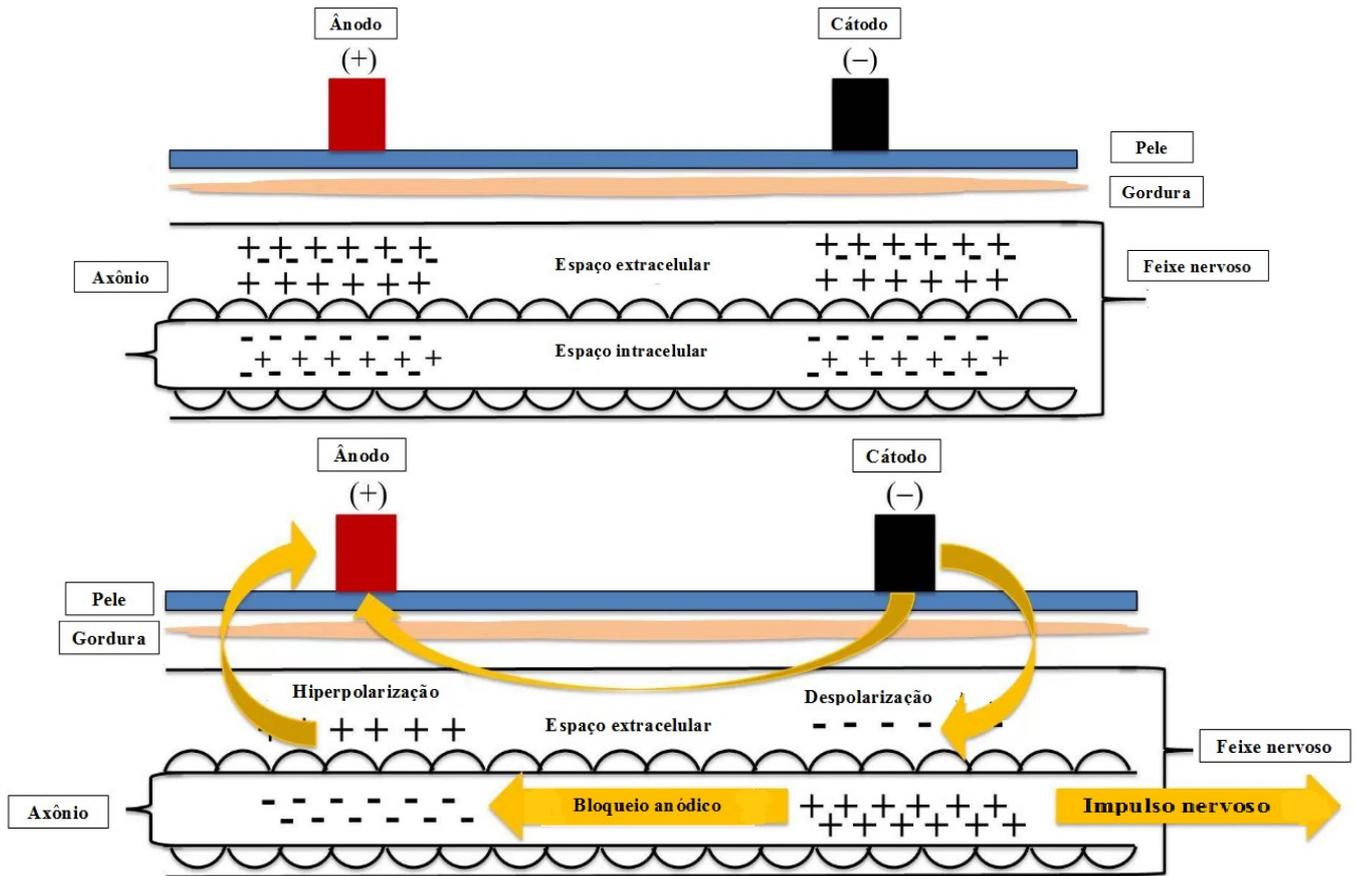


Figura 7 - Representação esquemática dos efeitos de uma corrente polarizada sobre o potencial de ação de uma fibra de neurônio. Figura adaptada de VOGEL, 2015.

A ETMCC promove efeitos durante a estimulação (efeitos *online*) e após o término da estimulação (*off-line*). Os efeitos *online* são aqueles provenientes da passagem corrente elétrica polarizada, como descrito anteriormente, que são capazes de induzir a despolarização por meio do aumento do influxo de cálcio nos canais voltagem-dependentes nas fibras aferentes Ia (GRECCO, 2015). As mudanças no potencial das fibras aferentes são acompanhadas por alterações das propriedades trans-sinápticas na junção entre a fibra aferente Ia e os motoneurônios e promove um aumento da liberação da quantidade de neurotransmissores excitatórios (PRIORI *et al.*, 2014). Os efeitos *off-line* podem ser atribuídos a capacidade da corrente direta de induzir alterações plásticas nos circuitos espinais mesmo após o término da estimulação por meio de mecanismos similares aos do potencial de longa duração e potencial de longa depressão (WINKLER; HERING & STRAUBE, 2010).

Eccles e colaboradores (19662) ao descrever os efeitos de uma corrente polarizada sobre a excitabilidade espinal de gatos por meio de uma montagem de eletrodos dorsal-ventral demonstraram que um eletrodo carregado positivamente (ânodo) induziu uma hiperpolarização

das fibras aferentes Ia na região dorsal e uma despolarização na região ventral (ECCLES ; KOSTYUK & SCHMIDT, 1962). Registros intracelulares dos neurônios motores mostraram que a ação da monossinapse excitatória das fibras aferentes primárias foi aumentada quando o potencial da membrana de seus terminais pré-sinápticos foi aumentado por uma corrente polarizada (hiperpolarização). Inversamente, a ação excitatória foi diminuída após a despolarização dos terminais pré-sinápticos -Figura 8 (ECCLES ; KOSTYUK & SCHMIDT, 1962).

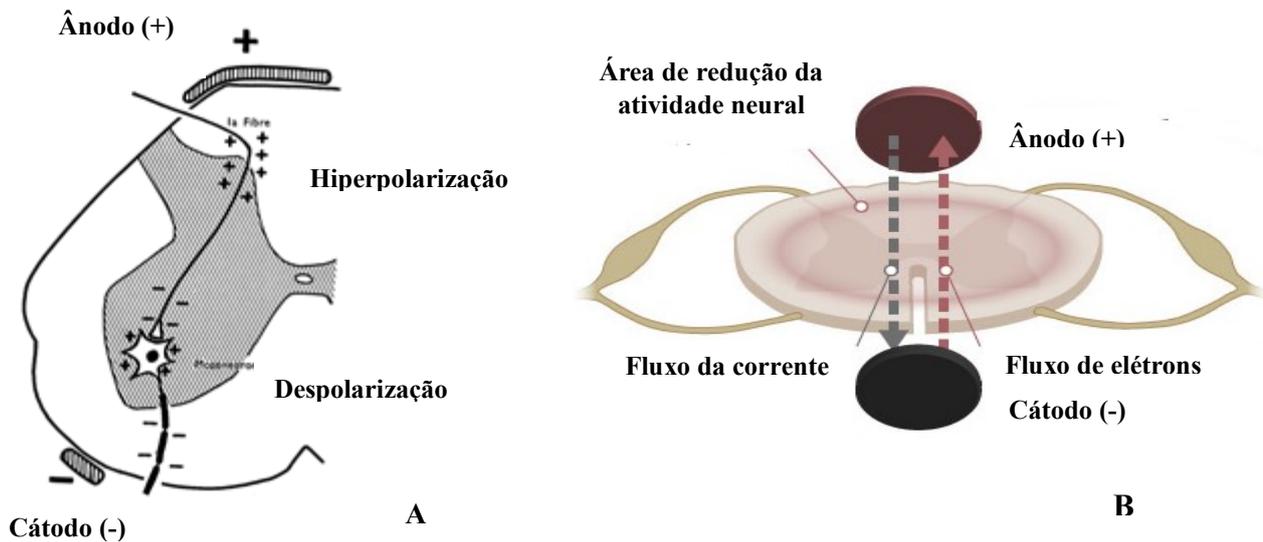


Figura 8 – A. Representação do efeito de dois eletrodos polarizados na medula espinhal. Eletrodo de carga positiva (ânodo) posicionado dorsalmente. Os sinais de positivo (+) indicam um aumento do potencial de membrana (hiperpolarização), os sinais negativos (-) indicam uma diminuição (despolarização). As mudanças no potencial de membrana são induzidas pela entrada e saída da fração de corrente que flui ao longo dos centros dos condutores tanto na fibra aferente primária quanto no motoneurônio e seu axônio. A inversão da direção da polaridade da corrente resultaria em alterações opostas no potencial da membrana. Figura adaptada de Eccles e colaboradores (1962). B. Representação esquemática dos efeitos da aplicação da ETMCC no segmento medular. Figura adaptada de Pathmaker Neurosystem Inc (2017).

Além das alterações provocadas pela ETMCC no segmento medular, Aguilar e colaboradores (2011) verificaram que a ETMCC anódica e catódica também atuou sobre a atividade espontânea e potencial somatossensorial do núcleo grácil e córtex somatossensorial. Em estudo com ratos anestesiados com uretano, os autores verificaram que a ETMCC anódica diminuiu a sincronização no córtex somatossensorial (menor potencial somatossensorial) enquanto que a ETMCC catódica exerceu efeito oposto (AGUILAR *et al.*, 2011).

Os efeitos da ETMCC sobre as vias descendentes, particularmente sobre o trato corticoespinhal e na excitabilidade do motoneurônio alfa, foram objeto de estudo de Ahmed e

colaboradores (2011). Os autores verificaram uma diminuição do PEM e aumento do tempo de latência para contração do tríceps sural de ratos submetidos a ETMCC anódica e uma resposta oposta foi obtida após a ETMCC catódica (AHMED, 2011)

Experimentos posteriores do mesmo grupo (AHMED, 2011; AHMED, 2013) descreveram os efeitos da associação entre a ETMCC e a estimulação elétrica repetitiva sobre as respostas deflagradas pelo córtex motor. Os estudos verificaram que a ETMCC catódica aumentou a amplitude das respostas motoras pelo córtex cerebral (AHMED, 2011) e induziu o bloqueio dos receptores dos neurotransmissores GABA e glicina no segmento medular, aumentando desta maneira a excitabilidade dos circuitos espinais (AHMED, 2013). Os efeitos da corrente direta sobre as mudanças neuroquímicas nos circuitos da medula espinal também foram investigados por Ahmed e Werasko (2012). Estes autores reportaram que a aplicação da ETMCC catódica aumentou a liberação de aspartato (substância utilizada como análogo do glutamato) na medula espinal de ratos, enquanto que a ETMCC anódica reduziu as concentrações desta substância (AHMED & WIERASZKO, 2012)

Portanto, os resultados dos estudos com animais sugerem que os efeitos locais da ETMCC ocorrem por meio da regulação da liberação dos neurotransmissores, particularmente GABA, glicina e aspartato (análogo ao glutamato) (PRIORI *et al.*, 2014). Embora os experimentos com animais representem um componente importante na formulação de teorias sobre as bases fisiológicas da ETMCC, é necessário considerar que a translação destes resultados para modelos experimentais com seres humanos possui algumas limitações, tais como: 1- uso de drogas anestésicas capazes de alterar a transmissão sináptica espinal; 2- diferenças na configuração e tamanho dos eletrodos e 3- diferenças na massa, composição corporal e na orientação do campo elétrico induzido (PRIORI *et al.*, 2014). Por estas razões, os resultados dos experimentos com modelos animais podem, apenas, ser parcialmente comparáveis a modelos humanos.

3.4.4 Evidências dos efeitos da ETMCC em humanos

De forma semelhante à montagem craniana, a ETMCC atua por meio da polarização da membrana e indução de neuroplasticidade dos circuitos medulares. Assim como os estudos com modelos animais, os estudos que avaliaram os efeitos da ETMCC em humanos também constataram que esta técnica neuromodulatória é capaz de modificar a atividade de vias ascendentes, descendentes e de arcos reflexos medulares (PRIORI *et al.*, 2014).

Estudos com indivíduos saudáveis submetidos a ETMCC anódica aplicada sobre a região torácica verificaram uma redução da atividade das vias lemniscais, por meio da redução do componente cérvico-medular do potencial somatossensorial (COGIAMANIAN *et al.*, 2008) e do trato espinotalâmico, trato responsável pela condução de informações de dor e temperatura ao cérebro (TRUINI *et al.*, 2011). Estes resultados demonstram que a ETMCC é capaz de modular a atividade de vias ascendentes da medula mesmo quando os tratos estão localizados em diferentes regiões anatômicas (PRIORI *et al.*, 2014).

A aplicação da corrente direta sobre a medula também é capaz de modificar a excitabilidade de tratos descendentes, a exemplo das fibras do trato corticoespinal (BOCCI *et al.*, 2014; MEYER-FRIEBEM *et al.*, 2015). Por meio de uma montagem de ETMCC anódica sobre os segmentos medulares cervicais, Lim e Shin (2011) constataram um aumento da excitabilidade do trato corticoespinal por meio do incremento da amplitude do PEM dos músculos dos membros superiores de indivíduos saudáveis no momento pós-estimulação (LIM & SHIN, 2011). Bocci e colaboradores (2014), através de uma montagem sobre os segmentos torácicos, demonstraram que a ETMCC anódica provocou aumento do limiar de repouso (diminuição da excitabilidade) enquanto que a ETMCC catódica induziu um aumento da área do potencial evocado motor (aumento da excitabilidade) dos músculos do membro inferior de sujeitos saudáveis. Estes resultados demonstraram que a ETMCC é capaz de modular o trato corticoespinal de forma polaridade dependente, tendo como possíveis mecanismos a liberação da quantidade de neurotransmissores espinais, a modulação das áreas motoras corticais e as mudanças na condução das vias ascendentes (BOCCI *et al.*, 2014).

Os efeitos da aplicação da ETMCC nos arcos reflexos medulares, em especial nos circuitos entre a fibra sensitiva Ia e o motoneurônio alfa, foram descritos em diversos estudos que utilizaram do reflexo H (LAMY *et al.*, 2012; LAMY & BOAKYE, 2013; HEIDE *et al.*, 2014) e da depressão pós-ativação (WINKLER ; HERING & STRAUBE, 2010) como medidas de avaliação para mensurar a excitabilidade medular.

Estudos prévios que avaliaram os efeitos da ETMCC anódica, catódica e *sham* sobre os parâmetros de reflexo H (área, amplitude, latência e razão H/M) verificaram que não há modulação da atividade reflexa no período imediatamente após a estimulação (WINKLER ; HERING & STRAUBE, 2010; BOCCI *et al.*, 2014; DONGÉS *et al.*, 2017). No entanto, Winkler e colaboradores (2010) constataram que a ETMCC anódica diminuiu significativamente os valores para a depressão pós-ativação (DPa), medida utilizada para

avaliar a progressiva diminuição da amplitude do reflexo H após estimulações repetidas a uma dada frequência, enquanto que a ETMCC catódica foi capaz de aumentá-la (WINKLER ; HERING & STRAUBE, 2010). Os autores atribuíram estes resultados ao aumento da liberação de neurotransmissores na sinapse entre fibra Ia e o motoneurônio alfa devido a diminuição do potencial de repouso das membranas das fibras aferente Ia após a ETMCC anódica. Contrariamente, o aumento da DPa após a ETMCC catódica foi atribuído a diminuição da eficiência sináptica devido a hiperpolarização da membrana das fibras aferentes Ia (WINKLER ; HERING & STRAUBE, 2010).

Resultados semelhantes foram encontrados por Lamy e colaboradores (2012) que descreveram um deslocamento à esquerda na curva de estímulo resposta do reflexo H (aumento da excitabilidade medular) após uma sessão de ETMCC anódica em sujeitos saudáveis e um deslocamento a direita (diminuição da resposta reflexa) após a ETMCC catódica (LAMY *et al.*, 2012).

Os resultados supracitados sugerem que a ETMCC não possui sua ação centrada nas mudanças da excitabilidade do motoneurônio alfa (componente fortemente presente na avaliação do reflexo H), mas, nos processos de transmissão sináptica entre a fibra sensitiva Ia e o motoneurônio alfa, componentes avaliados de forma mais fidedigna por meio de medidas que utilizam de pulsos pareados ou curvas de dose resposta (PRIORI *et al.*, 2014). Embora estes mecanismos ainda não estejam completamente esclarecidos, sabe-se que pacientes espásticos apresentam uma diminuição do controle inibitório descendente e possuem uma taxa de recuperação reflexa aumentada, ou seja, uma diminuição da depressão pós-ativação (GREY *et al.*, 2008). Neste contexto, a ETMCC emerge como uma ferramenta em potencial para modulação destes circuitos medulares.

Os diversos estudos que avaliaram os efeitos da ETMCC sobre a excitabilidade medular, por vezes, apresentam resultados contraditórios. No entanto, é necessário considerar que os efeitos da corrente elétrica sobre as células neuronais são dependentes dos elementos neurais envolvidos (corpos neuronais ou axônios), da polaridade da corrente, distância dos eletrodos, morfologia dos tecidos e do sentido e direção do campo elétrico induzido (AHMED, 2011; PARAZZINI *et al.*, 2014a).

Em recente estudo, Lamy e colaboradores (2013) demonstraram que os efeitos antagônicos observados após uma mesma montagem de ETMCC anódica sobre a excitabilidade

medular podem estar associados a polimorfismos genéticos no fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês, BDNF). Os autores verificaram um aumento da excitabilidade apenas nos indivíduos homozigotos para o gene BDNF Val. Estes resultados correlacionaram pela primeira vez características genótípicas às respostas induzidas pelo campo elétrico, justificando a variabilidade interindividual das respostas a ETMCC (LAMY & BOAKYE, 2013)

Outro importante reflexo utilizado como parâmetro para avaliação da excitabilidade espinal é o reflexo de retirada da perna (RRP). Estudos recentes demonstraram a ETMCC anódica é capaz de diminuir a magnitude (COGIAMANIAN *et al.*, 2011) e aumentar o limiar do reflexo de retirada da perna em sujeitos saudáveis (PERROTTA *et al.*, 2016). Esta redução foi atribuída a modificações diretas (ex., neurônios de ampla faixa dinâmica) ou indiretas (neurônios colaterais no corno posterior da medula) na rede de interneurônios responsáveis pela transmissão de informações nociceptivas na medula (COGIAMANIAN *et al.*, 2011). Outros possíveis mecanismos também podem estar relacionados com os resultados supracitados, tais como: alterações nas concentrações de neurotransmissores espinais, ativação de alças supraespinais retransmitidas pelo tronco cerebral e sistema tálamo-cortical (COGIAMANIAN *et al.*, 2011) e alterações na eficiência dos receptores de NMDA (N-metil D-Aspartato) a nível espinal (PERROTTA *et al.*, 2016).

Além dos resultados apresentados nos estudos com sujeitos saudáveis, a ETMCC mostrou-se capaz de modular a atividade reflexa espinal de indivíduos com patologias do sistema nervoso como lesão medular completa (HUBLI *et al.*, 2013) e síndrome das pernas inquietas (HEIDE *et al.*, 2014). Hubli e colaboradores (2013) constataram que a ETMCC anódica, quando aplicada sobre os segmentos torácicos de 17 indivíduos com lesão medular completa, promoveu um aumento da excitabilidade dos reflexos espinais durante um período de 20 minutos após a estimulação quando comparada a estimulação fictícia e ao treino locomotor isoladamente (HUBLI *et al.*, 2013). Este resultado corrobora a hipótese de que a ETMCC atua localmente nos circuitos neuronais espinais mesmo na ausência de sistemas modulatórios provenientes de estruturas suprasegmentares do sistema nervoso central. Contrariamente, Heide e colaboradores (2014) verificaram que a ETMCC anódica levou a diminuição da taxa de recuperação dos reflexos medulares (diminuição da excitabilidade espinal) e alívio dos sintomas de pacientes com síndromes das pernas inquietas por meio de uma possível ativação do sistema modulatório inibidor descendente (HEIDE *et al.*, 2014).

Tabela 2. A Caracterização e principais resultados dos estudos que utilizaram estimulação transmedular (ETMCC) por corrente contínua em humanos.

Autor/ano	Sujeitos saudáveis	Pacientes	Polaridade	Montagem	Parâmetros	Desfecho	Resultado
Vias ascendentes							
Cogiamanian et al., 2008	12	—	Anódica/ catódica	Eletrodo ativo sobre a vértebra T11 e referência no ombro direito	2,5 mA; 15 min; AE = 35 cm ²	Potencial evocado somatossensorial	Diminuição da atividade do trato lemniscal apenas após a ETMCC anódica
Truini et al., 2011	20	—	Anódica/ catódica	Eletrodo ativo sobre a vértebra T10 e referência no ombro direito	2,5 mA; 20 min; AE = 35 cm ²	Potencial evocado por laser	A ETMCC anódica diminuiu a condução nociceptiva ascendente
Meyer-Friebem et al., 2015	24	—	Anódica/ sham	Eletrodo ativo sobre a vértebra T11 e referência no ombro esquerdo	2,5 mA; 15 min; AE = 35 cm ²	Limiar elétrico e mecânico de dor; sensibilidade elétrica e mecânica de dor	ETMCC anódica reduziu sensibilidade ao estímulo doloroso até uma hora após o término da estimulação.
Vias descendentes							
Lim & Shin, 2011	12	—	Anódica/ catódica/ sham	Eletrodo ativo sobre a vértebra C7 e referência na região anterior do pescoço	2 mA; 20 min; AE = 25 cm ²	Potencial evocado motor	A ETMCC catódica e anódica aumentaram a excitabilidade do trato corticoespinal

Bocci et al.,2015	14	_	Anódica/ catódica	Eletrodo ativo sobre a vértebra T10 e referência no ombro direito	2 mA; 20 min; AE = 35 cm ²	Potencial evocado motor, onda F e Reflexo H	ETMCC anódica aumentou o limiar motor de repouso e a ETMCC catódica aumentou a área do PEM. Ambas as estimulações não induziram mudanças no reflexo H e na onda F.
Dongés et al., 2017	12	_	Anódica/ sham	Eletrodo ativo sobre a vértebra C7 e referência na região anterior do pescoço	3 mA; 20 min; AE = 30 cm ²	Potencial evocado motor, reflexo H e depressão pós- ativação	Ambas as montagens de ETMCC não modificaram as respostas corticoespinais e o reflexo H

**Reflexos
medulares**

Winkler et al, 2010	10	—	Anódica/ catódica/ sham	Eletrodo ativo sobre T11 e referência na região infraclavicular	2,5 mA; 15 min; AE = 40 cm	Reflexo H e depressão pós-ativação	A ETMCC anódica aumentou a eficácia da sinapse Ia-motoneurônio (reduziu Dpa) e ETCC catódica a reduziu
Cogiamanian et al, 2011	11	—	Anódica/ sham	Eletrodo ativo sobre a vértebra T11 e referência no ombro direito	2 mA; 15 min; AE = 35 cm ²	Reflexo de retirada da perna	A ETMCC diminuiu a transmissão nociceptiva por meio da redução da área do reflexo de retirada da perna
Lamy et al., 2012	17	—	Anódica/ catódica/ sham	Eletrodo ativo sobre a vértebra T11 e referência no ombro direito	2,5 mA; 15 min; AE = 35 cm ²	Reflexo H (curva de recrutamento)	A ETMCC anódica aumentou a excitabilidade por até 15 minutos após término da estimulação
Lamy & Bock, 2013	17	—	Anódica	Eletrodo ativo sobre a vértebra T11 e referência no ombro direito	2,5 mA; 15 min; AE = 35 cm ²	Reflexo H (curva de recrutamento)	ETMCC anódica induziu um deslocamento para a esquerda na curva de recrutamento de indivíduos homozigotos para o gene BNDF Val (aumento da excitabilidade).
Humbli et al., 2013	11	17 Lesão medular completa	Anódica/ catódica/ sham	Eletrodo ativo sobre a vértebra T11 e referência no ombro direito	2,5 mA; 20 min; AE = 35 cm ²	Comportamento do reflexo espinal	ETMCC catódica diminui a atividade reflexa medular em saudáveis. A ETMCC anódica diminuíram o limiar reflexo (aumentou a excitabilidade) em pacientes com lesão medular.
Bocci et al, 2014	12	—	Anódica/ catódica/ sham	Eletrodo ativo entre as vértebras T9 a T11 e referência no ombro direito	2,5 mA; 20 min; AE = 35 cm ²	Número de unidades motoras (MUNE)	A ETMCC anódica aumentou o recrutamento de unidades motoras

Heide et al. 2014	14	20	Anódica/ catódica/ sham	Eletrodo ativo sobre a vértebra T11 e eletrodo de referência na região supraclavicular direita	2,5 mA; 15 min; AE = 45 cm ²	Reflexo H (duplo estímulo com diferentes intervalos) e Escala visual analógica	A ETMCC anódica e catódica diminuíram os sintomas de pernas inquietas até uma hora após o término da estimulação. Apenas ETMCC anódica diminuiu a excitabilidade medular no grupo de pacientes.
Perrota et al, 2016	10	–	Anódica/ catódica/ sham	Eletrodo ativo sobre a vértebra T10 e referência no ombro direito	2,5 mA; 15 min; AE = 35 cm ²	Reflexo de retirada da perna	A ETMCC anódica induziu um aumento do limiar de somação temporal do reflexo de retirada da perna

AE: Área do eletrodo; PEM: Potencial Evocado Motor.

3.4.5 Estudos de modelagem com ETMCC

Os estudos que utilizaram modelos computacionais para avaliar os efeitos das diferentes montagens de ETMCC proveem informações importantes sobre os efeitos, direção e concentração do campo elétrico induzido na medula espinal, cauda equina, nervos espinais e tecidos circundantes (PRIORI *et al.*, 2014).

Parazzini e colaboradores (2014) avaliaram a densidade e distribuição da corrente durante a aplicação de três montagens de ETMCC. As montagens foram configuradas com o eletrodo ânodo posicionado sobre a décima vértebra torácica e o cátodo em três locais distintos: 1- braço direito; 2- cicatriz umbilical e 3- vértex do crânio (área correspondente ao ponto Cz no sistema 10-20 de EEG). O estudo constatou que em todas as montagens o campo elétrico difundiu-se longitudinalmente ao longo da medula, sendo esta propagação mais extensa durante as montagens 1 e 2. A montagem utilizada sobre braço direito apresentou uma densidade de corrente de $0,016 \text{ Am}^{-2}$ e uma menor dissipação de corrente para os tecidos circundantes (Figura 9). O estudo também reportou que em todas as montagens a densidade da corrente se distribuiu de forma homogênea ao longo do plano transversal da medula e induziu uma força de campo elétrico semelhante entre as regiões centrais e dorsais da medula (PARAZZINI *et al.*, 2014a). No entanto, o estudo apontou que o campo elétrico da ETMCC se dissipou ao longo dos tecidos circundantes à medula, como músculos do dorso e raízes nervosas e que a montagem sobre Cz estimulou áreas supraespinhais como bulbo e cerebelo (PARAZZINI *et al.*, 2014a).

A quantidade de dispersão e a distribuição da corrente elétrica induzida pela ETMCC sofrem influências do tamanho corporal, idade, disposição dos eletrodos e do fluxo do fluido cérebro espinal (PRIORI *et al.*, 2014). Apesar destas influências e das diferenças interindividuais a ETMCC é capaz de induzir campos elétricos na medula com amplitude entre 1 V/m e 14 V/m , intensidades apontadas como capazes de modular a atividade no tecido neural (FIOCCHI *et al.*, 2016).

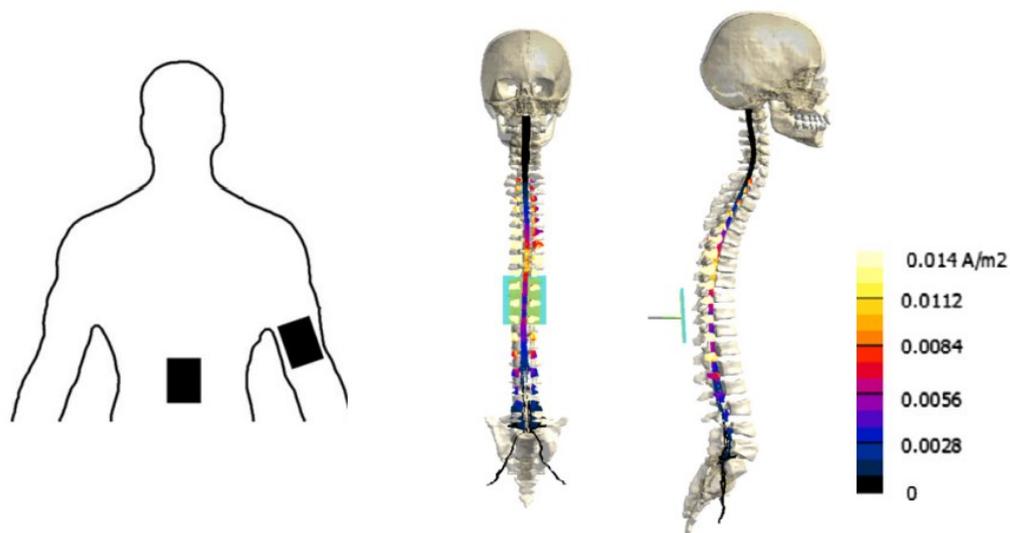


Figura 9 - Vista anterior e lateral da distribuição da amplitude de estimulação em joules (J) na medula espinal, cauda equina e nervos espinais durante uma montagem de estimulação transmedular por corrente contínua (ânodo posicionado sobre a décima vértebra torácica e cátodo posicionado sobre o braço direito). Figura adaptada de: PARAZZINI *et al.*, 2014; Priori *et al.* 2014.

3.4.6 Critérios de segurança

A ETMCC é considerada uma técnica neuromodulatória segura e indolor quando aplicada em adultos e crianças. Até o momento, nenhum estudo reportou efeitos adversos severos (ex.: dor ou lesão tecidual) após a aplicação da ETMCC em seres humanos (COGIAMANIAN *et al.*, 2012a) ou animais (AHMED, 2011). Dentre os efeitos adversos mais comumente reportados destacam-se a sensação de coceira e formigamentos leves na região imediatamente abaixo dos eletrodos (WINKLER ; HERING & STRAUBE, 2010; BOCCI *et al.*, 2014).

Assim como constatado nos estudos que utilizaram a aplicação da corrente direta sobre o crânio (NITSCHKE *et al.*, 2008), a estimulação transmedular por corrente contínua produz um campo elétrico de magnitude máxima de 0,9 a 4,5 Vm^{-1} (PARAZZINI *et al.*, 2014a). Estudos com sujeitos saudáveis submetidos a um modelo de estimulação por corrente direta sobre o córtex cerebral verificaram que campos elétricos de magnitudes semelhante aos gerados pela ETMCC não são capazes de provocar aquecimento na região localizada abaixo do eletrodo (NITSCHKE & PAULUS, 2000) ou elevar os níveis séricos de marcadores específicos para lesões do tecido neural (NITSCHKE *et al.*, 2003). Adicionalmente, Ahmed e colaboradores (2011), em experimento utilizando modelos animais, verificaram que a aplicação da ETMCC

catódica com intensidade de 3 mA não é capaz de induzir alterações histoquímicas na medula espinal de ratos (AHMED, 2011).

Como supracitado no tópico de modelos de aplicação, o campo elétrico produzido pela ETMCC dissipa-se para tecidos circundantes à medula, sendo esta dissipação mais significativa em indivíduos de baixo peso e crianças (PARAZZINI *et al.*, 2014a). Fiocchi e colaboradores (2016), em estudo que avaliou a dispersão do campo elétrico no sistema nervoso central e tecidos circundantes de crianças com idade entre quatro e oito anos submetidas a ETMCC catódica, verificaram que a dispersão do campo elétrico é maior em crianças de menor idade (menor que cinco anos) e que a amplitude do campo elétrico gerado no tecido medular de crianças é 60% superior ao campo gerado em adultos e adolescentes submetidos a correntes de igual intensidade (FIOCCHI *et al.*, 2016). No entanto, estes valores são muito inferiores a magnitude de campo elétrico necessário para induzir lesão no tecido neural, 25 mA/cm² ou 14,6 KV/m² (PARAZZINI *et al.*, 2014b).

Considerando que a magnitude do campo elétrico induzido na medula varia de acordo com a massa corporal, idade, intensidade de corrente, tamanho e disposição dos eletrodos, recomenda-se uma intensidade de corrente de 1,2 mA para a aplicação da ETMCC em pacientes pediátricos, uma vez que esta intensidade é capaz de garantir os mesmos níveis de pico do campo elétrico que uma estimulação de 2 a 3 mA em adultos (FIOCCHI *et al.*, 2016).

3.5 Exercício físico e modulação da excitabilidade medular

Durante a execução de exercícios rítmicos como a caminhada ou ciclismo, múltiplas interações neuronais ocorrem simultaneamente nos segmentos medulares para modular a excitabilidade dos arcos reflexos (MEUNIER *et al.*, 2007). Estas interações emergem de *feedbacks* sensoriais aferentes e dos *inputs* descendentes corticais para ajustar a amplitude, taxa e periodicidade das descargas neuronais com base na tarefa motora (ROSSIGNOL ; DUBUC & GOSSARD, 2006). As informações aferentes que chegam até os segmentos medulares influenciam os circuitos intrínsecos da medula e modificam as conexões sinápticas entre a fibra aferente Ia e/ou dos tratos descendentes com os motoneurônios (MEUNIER *et al.*, 2007).

Atividades locomotoras como caminhar, correr e pedalar acionam diferentes padrões de ritmo de movimento de braços e pernas. Este movimento rítmico ativa os centros geradores de padrão de passos (CGPs) da medula. Os CGPs são formados por uma rede adaptável de interneurônios nos segmentos lombares da medula espinal capazes de excitar motoneurônio responsáveis pela flexão e extensão alternadas dos quadris e joelhos (EDGERTON *et al.*, 2004). Estas estruturas recebem informações dos sistemas ascendentes e descendentes e podem ser modulados de acordo com o ambiente locomotor e tarefa requerida (Figura 10) (KOMIYAMA & NAKAJIMA, 2012). Portanto os CGPs não atuam somente na manutenção do ritmo da locomoção, mas desempenham papel fundamental na regulação dos ganhos reflexos em resposta aos estímulos sensoriais (BURKE, 1999).

Além da modulação promovida pelos centros geradores de padrão de passos nas tarefas motoras com ritmo, o exercício regula a excitabilidade medular por meio de diferentes mecanismos a depender de fatores como: sistema energético utilizado (aeróbico ou anaeróbico), intensidade do exercício, características e complexidade da tarefa realizada (MAZZOCCHIO *et al.*, 2006; KOMIYAMA & NAKAJIMA, 2012).

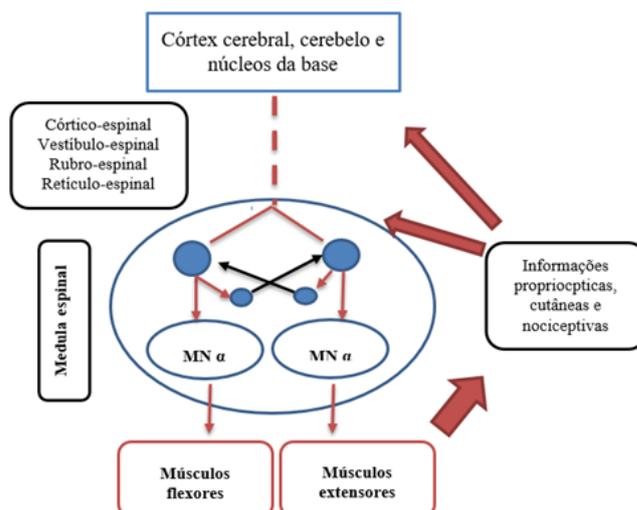


Figura 10 - Influências descendentes e periféricas do central gerador de padrão de passos. MN α : motoneurônio alfa. Fonte: autor.

Os exercícios aeróbicos rítmicos atuam sobre a modulação da excitabilidade medular por meio de mecanismos inibitórios no sistema nervoso central que envolvem repostas das estruturas corticais e dos receptores mecânicos dos músculos e outras estruturas relacionadas com a execução da tarefa. Estas alterações podem ser explicadas por diferentes mecanismos a depender a intensidade do exercício (BOORMAN *et al.*, 1992).

Exercícios aeróbicos com intensidade moderada e intensa, ou seja, capazes de induzir uma taxa metabólica seis a dez vezes superior a taxa metabólica de repouso, reduzem em até 20% a amplitude do reflexo H (MIMASA & MORITANI, 1990; MOTL ; KNOWLES & DISHMAN, 2003). Molt e colaboradores (2003) verificaram uma redução da amplitude do reflexo H após um protocolo de exercício contendo ciclismo ativo e ciclismo passivo. O protocolo de exercícios utilizado por este estudo foi considerado de intensidade leve a moderada, provocando apenas um incremento de duas vezes na taxa metabólica de repouso. Apesar disto, as mudanças na excitabilidade medular foram vistas imediatamente após o término do exercício e perduraram por até 30 minutos (MOTL ; KNOWLES & DISHMAN, 2003). Os autores relacionaram a atenuação da amplitude do reflexo H à ativação dos receptores mecânicos musculares, componente presente nos protocolos de exercício passivo e ativo, ao invés da modulação pré-sináptica por comandos descendentes. Outros mecanismos como a inibição recíproca pela ativação de músculos antagonistas; a inibição heteromônica pelas fibras Ib do órgão tendinoso de golgi e a indução da depressão pós-ativação também

foram especulados como possíveis causas da redução da excitabilidade medular (MOTL ; KNOWLES & DISHMAN, 2003).

O efeito de um protocolo de exercícios extenuantes sobre a excitabilidade medular foi objeto de estudo de Kato e colaboradores (2003). Os autores verificaram uma diminuição da amplitude do reflexo H e aumento do PEM em sete voluntários saudáveis submetidos a um protocolo de exercícios contendo flexões isométricas do punho até a indução da fadiga. Estas alterações foram atribuídas a alterações no limiar dos motoneurônios que levou a redução da eficácia sináptica; a possíveis alterações da excitabilidade espinal devido a mudanças da atividade de neurônios motores corticais e da inibição proveniente das fibras aferentes dos grupos III (fibras que conduzem informações de pressão mecânica musculares e da pele) e IV (fibras que conduzem informações nociceptivas provenientes de pressões mecânicas ou respostas bioquímicas de subprodutos do metabolismo muscular) sobre os motoneurônios espinais (KATO *et al.*, 2003).

As variações das características das atividades desenvolvidas durante os protocolos de exercício também exercem diferentes efeitos sobre a excitabilidade dos circuitos medulares. Desta maneira, exercícios que tenham predomínio de tarefas que envolvam respostas de equilíbrio são capazes de modular a excitabilidade medular de forma diferente de atividades rítmicas como o ciclismo, por exemplo (KOMIYAMA & NAKAJIMA, 2012). Harel e colaboradores (2015) compararam os efeitos de três diferentes protocolos de exercícios contendo caminhada na esteira ou exercícios de equilíbrio ou exercícios multimodais (combinação de exercícios de equilíbrio e de habilidade manuais) na amplitude do reflexo H facilitado por estímulo sublimiar de EMT, tempo de condução motora central e potencial evocado motor de indivíduos saudáveis (HAREL *et al.*, 2015). Os autores verificaram uma diminuição da facilitação de curta latência do reflexo H e da velocidade de condução motora após a caminhada na esteira e um aumento das respostas do reflexo H e da velocidade de condução após os exercícios de equilíbrio e multimodais (HAREL *et al.*, 2015). Estes resultados foram atribuídos a ativação de outros circuitos subcorticais (circuitos intrínsecos da medula, centros cerebelares, núcleos da base e das vias retículo e vestibuloespinal) pelas tarefas que exigiram reações de equilíbrio e de circuitos polissinápticos entre córtex, bulbo e medula pelas tarefas multimodais (BOUTILIER *et al.*, 2012; HAREL *et al.*, 2015).

Além da intensidade e das características do exercício, a excitabilidade medular é modulada diferentemente de acordo com a complexidade da tarefa introduzida durante a

execução do exercício. Perez e colaboradores (2005) verificaram uma depressão da curva de recrutamento e da razão H/M do reflexo H após uma sessão de exercícios de flexão plantar e dorsiflexão repetidas quando associada a tarefa visomotora complexa (feedback visual), enquanto nenhuma alteração foi vista no grupo que realizou a mesma atividade sem o feedback visual. A depressão do reflexo H foi acompanhada pelo aumento da depressão de longa latência e da diminuição da facilitação mediada por estímulo prévio no nervo femoral sem que houvesse mudanças no potencial somatossensorial ou nos valores para inibição recíproca dissináptica da fibra Ia. Estes resultados foram atribuídos ao aumento do controle pré-sináptico seletivo das fibras Ia que contribuiu na modulação dos *inputs* sensoriais durante a aquisição de novas habilidades. O aumento da inibição pré-sináptica, demonstrada pela depressão do reflexo H, e a ausência de mudanças no potencial somatossensorial evidenciaram que esta inibição é seletiva para terminais aferentes Ia da medula, sendo mediada por circuitos de neurônios espinais diferentes dos circuitos que envolvem sinapses com as fibras ascendentes (PEREZ ; LUNGHOLT & NIELSEN, 2005a).

Algumas hipóteses foram levantadas como possíveis explicações para as mudanças induzidas pelo exercício com habilidades visuomotoras, foram elas: i – alterações da atividade do motoneurônios gama que induziram um aumento da descarga dos fusos musculares aferentes; ii- aumento da co-contração da musculatura antagonista e iii – alterações no comando motor descendente induzido pelo exercício de maior complexidade para interneurônios inibitórios (PEREZ ; LUNGHOLT & NIELSEN, 2005a).

Mazzocchio e colaboradores (2006) ao avaliar a excitabilidade cortical e espinal de um grupo de 18 voluntários submetidos após três diferentes sessões de ciclismo (com variação da resistência do pedal, sem variação de resistência e posicionamento estático sobre a bicicleta) verificaram que apenas o treino com variação da resistência do pedal foi capaz de reduzir a amplitude do reflexo H. Portanto, a redução da excitabilidade medular foi correlacionada com a aquisição de novas habilidades. O estudo também verificou que não houve modificação do PEM avaliado pela EMT após nenhuma das sessões. Os autores sugeriram que o exercício de maior complexidade não foi suficiente para gerar mudanças no trato corticoespinal mas pode ter envolvido uma reorganização neural em múltiplos sítios medulares que não foram avaliados pela EMT. A diminuição do reflexo H sem alteração do PEM pode ter sido consequência de uma inibição pré-sináptica nos aferentes primários ou por mecanismos de depressão pós-ativação não avaliados pelo estudo (MAZZOCCHIO *et al.*, 2006).

Resultados semelhantes foram reportados por Meunier e colaboradores (2007), que compararam os efeitos de uma sessão de ciclismo estacionário com velocidade constante e do ciclismo estacionário associado a uma atividade visomotora complexa (variação da carga do pedal a cada 15s) sobre a excitabilidade medular de 23 sujeitos saudáveis por meio da avaliação do reflexo H e da depressão pós-ativação do músculo sóleo. Os autores reportaram uma diminuição da amplitude e aumento da depressão pós-ativação do reflexo H em até 96 horas após o término da sessão de ciclismo com atividade visomotora complexa associada. Esta diminuição foi maior entre as pessoas que praticavam atividade física no período anterior ao estudo. Estes resultados demonstraram que a magnitude da modulação também é dependente do nível de pré-ativação dos circuitos medulares, uma vez que sujeitos fisicamente ativos obtiveram maior depressão da atividade reflexa. Adicionalmente, os resultados foram atribuídos à diminuição da eficácia sináptica entre a fibra aferente Ia e o motoneurônio alfa após o treino com desafios e a permanência destes efeitos às modificações estruturais nas sinapses, como alterações na densidade dos botões sinápticos ou dessensibilização dos receptores pós-sinápticos (MEUNIER *et al.*, 2007).

Os efeitos do exercício sobre a excitabilidade medular também foram verificados em estudos com pacientes com lesão no sistema nervoso central (PHADKE *et al.*, 2009; KNIKOU ; SMITH & MUMMIDISSETTY, 2015). Pacientes com sequelas de esclerose múltipla, acidente vascular cerebral ou lesão medular apresentam aumento dos arcos reflexos medulares e menor depressão pós-ativação (DPA) devido à perda do controle inibitório descendente e do aumento da efetividade sináptica dos aferentes periféricos (SINKJÆR *et al.*, 1996). Phadke e colaboradores (2009) compararam os efeitos do ciclismo estacionário e da caminhada na esteira sobre a depressão pós-ativação de 11 sujeitos saudáveis e 12 com lesão medular incompleta. Os autores demonstraram que na condição basal os sujeitos com lesão medular apresentaram menor valor para DH e uma redução significativa da excitabilidade medular foi vista após o treino locomotor nos sujeitos saudáveis e após o treino de ciclismo estacionário nos pacientes. Esta redução foi mais expressiva nos pacientes com lesão crônica (tempo de lesão ≥ 12 meses) e entre os pacientes com maior grau de espasticidade - Escala de Ashworth ≥ 2 (PHADKE *et al.*, 2009).

A modulação da atividade reflexa encontrada no estudo supracitado foi relacionada à ativação das centrais geradoras de padrão da medula que forneceram feedbacks sensoriais

específicos da tarefa e ao possível aumento de neurotransmissores inibitórios (substância P e 5-HT) nos segmentos medulares lombares induzidos pelo exercício (PHADKE *et al.*, 2009).

Os efeitos da caminhada sobre esteira sobre a modulação da excitabilidade medular pela inibição recíproca fornecida pelas fibras Ia e pela inibição não-recíproca Ib em 16 pacientes lesionados medulares também foi objeto de estudo de Knikou e colaboradores (2015). Os autores foram os primeiros a reportar as mudanças plásticas na inibição recíproca Ia e não recíproca Ib após o treino com a caminhada com suporte de peso corporal. Os autores verificaram que o treino foi capaz de induzir inibição recíproca e que a magnitude desta inibição variou de acordo com as fases da marcha (apoio ou balanço) e com o grau de comprometimento sensorio-motor dos pacientes (KNIKOU ; SMITH & MUMMIDISSETTY, 2015).

A tabela 3 sumariza alguns dos principais resultados dos estudos que avaliaram os efeitos do exercício sobre a excitabilidade medular de sujeitos saudáveis e com sequelas decorrentes de lesões do sistema nervoso. De forma geral, a maioria dos estudos reportou uma depressão da excitabilidade medular (expresso pela diminuição da amplitude do reflexo H ou pelo aumento depressão pós-ativação) após a prática de exercícios aeróbicos rítmicos de intensidade moderada como ciclismo e caminhada na esteira e após atividades de maior complexidade onde há necessidade de aprendizado de novas habilidades motoras.

Tabela 3. Caracterização dos estudos que investigaram as repercussões da atividade física na excitabilidade medular de indivíduos saudáveis e com patologias do sistema nervoso.

Autor/ano	Sujeitos saudáveis	Pacientes	Atividade realizada	Desfecho	Resultado
Kato et al., 2003	7	–	Contração isométrica de flexão do punho Frequência: 1 sessão (até 8 blocos com 20 de intervalo) e carga de 6kg.	Reflexo H e Potencial evocado motor	Diminuição da amplitude do reflexo e aumento do potencial evocado motor após o exercício extenuante.
Molt et al., 2003	12	–	Ciclismo ativo ou ciclismo passivo (60 r.p.m.) ou repouso. Frequência: 1 sessão Duração 20 minutos	Reflexo H	O ciclismo ativo e o passivo reduziram a amplitude do reflexo H após o término do exercício (10 e 30 minutos) quando comparados ao grupo que permaneceu em repouso.
Perez et al., 2005	19	–	Flexão plantar e dorsiflexão repetidas com e sem feedback visual. Frequência: 1 sessões Duração: 32 minutos (8 blocos de 4 min)	Reflexo H, Potencial somatossensorial, Depressão de longa latência e Facilitação monossináptica	Depressão da curva de recrutamento e da razão H/M apenas no grupo que realizou o exercício com feedback visual. Não houve alteração do potencial somatossensorial em nenhum dos grupos.
Mazzocchio et al., 2006	18	–	Ciclismo associado atividade visuomotora simples (resistência do pedal constante) e complexa (pedal como resistência variável a cada 15 segundos). Frequência: 3 sessões Duração: 16 minutos	Reflexo H e Coeficiente de variação de velocidade	Amplitude do reflexo H diminuiu apenas no grupo que realizou treino com variação da resistência. Houve correlação positiva entre a melhora do desempenho e a redução da amplitude do reflexo H.

Tabela 3. Continuação

Autor/ano	Sujeitos saudáveis	Pacientes	Atividade realizada	Desfecho	Resultado
Meunier et al., 2007	23	—	Ciclismo associado atividade visuomotora simples (resistência do pedal constante) e complexa (pedal como resistência variável a cada 15 segundos). Frequência: 1 sessão; Duração: 16 minutos	Reflexo H, Depressão pós-ativação e Coeficiente de variação de velocidade	Ambos os grupos melhoraram a performance. Diminuição da amplitude e aumento da depressão do reflexo H apenas após o ciclismo com atividade visuomotora complexa.
Phadke et al., 2009	11	12 Lesão medular incompleta	Ciclismo estacionário com velocidade de 54 a 56 r.p.m. Frequência: 1 sessão; Duração: 20 minutos Caminhada na esteira com suporte de peso corporal (40%) e sem suporte de peso. Frequência: 1 sessão; Duração: 20 minutos	Reflexo H Depressão pós-ativação	<u>Saudáveis</u> : a caminhada na esteira aumentou a depressão pós-ativação. <u>Pacientes</u> : O ciclismo aumentou significativamente a depressão pós-ativação principalmente entre os pacientes crônicos e mais espásticos,
Harel et al., 2015	20	—	Caminhada na esteira (3.2 km/h) ou exercício de equilíbrio (equilibrar-se sobre disco proprioceptivo) ou exercício multimodal (exercício de equilíbrio associado a digitação de uma série numérica). Frequência: 1 sessão; Duração: 30 minutos	Reflexo H (facilitado por estímulo sublimiar de TMS), Tempo de condução central e Potencial evocado motor	Aumento da facilitação de curta latência do reflexo H e diminuição do tempo de condução central após o exercício de equilíbrio e multimodal. Respostas opostas foram obtidas após a caminhada na esteira.
Knikou et al., 2015	—	16 Lesão medular incompleta	Caminhada na esteira com suporte corporal por exoesqueleto (40% e 60% segundo o grau de comprometimento sensoriomotor). Frequência: 5 dias; Duração: 1 hora por dia	Reflexo H (condicionado) Inibição recíproca Ia Inibição não-recíproca Ib	O exercício induziu aumento da inibição recíproca. A reorganização do controle inibitório pós-sináptico divergiu de acordo com as fases da marcha e do comprometimento sensorio-motor.

4 HIPÓTESES

Esta tese foi composta de dois estudos distintos. Os tópicos a seguir apresentarão as hipóteses, objetivos e métodos separadamente para cada um dos estudos.

4.1 Hipótese do estudo 1

A estimulação transmedular por corrente contínua é eficaz em modular a atividade reflexa da medula espinal de sujeitos saudáveis quando comparada a estimulação sham e suas respostas são dependentes da polaridade do eletrodo.

4.2 Hipótese do estudo 2

Dentre as estimulações não-invasivas utilizadas, a estimulação magnética transcraniana repetitiva de alta frequência aplicada sobre o córtex motor primário e a estimulação transmedular por corrente contínua anódica quando associadas ao exercício físico de intensidade moderada na esteira promoverão uma redução da amplitude do reflexo de Hoffmann e um aumento da depressão pós-ativação em indivíduos saudáveis.

5 OBJETIVOS

Esta tese é composta por dois estudos que possuem características e objetivos distintos:

5.1 Objetivo geral do estudo 1

Avaliar os efeitos da estimulação transmedular por corrente direta (ETMCC) sobre a excitabilidade dos circuitos espinais monossinápticos de indivíduos saudáveis.

5.1.1 Objetivos específicos do estudo 1

Sumarizar e avaliar a qualidade da evidência de estudos experimentais (ensaios clínicos e crossovers) que compararam as respostas eletrofisiológicas e sujeitos saudáveis submetidos à estimulação transmedular por corrente direta anódica e/ou catódica comparada com a estimulação fictícia em relação à:

- (i) Amplitude do reflexo de Hoffmann;
- (ii) Amplitude da depressão monossináptica;

5.2 Objetivo geral do estudo 2

O propósito do presente estudo é compreender os efeitos da associação de duas técnicas diferentes de estimulação não invasiva do sistema nervoso central com o exercício físico na esteira sobre a excitabilidade medular de indivíduos saudáveis.

5.2.1 Objetivos específicos do estudo 2

Em indivíduos saudáveis, comparar a eficácia de seis tipos de estimulação não invasiva do SNC associadas ao exercício físico de intensidade moderada em modificar a:

- A excitabilidade espinal por meio de um reflexo monossináptico (Reflexo de Hoffmann)
- A atividade de circuitos espinais inibitórios (Depressão pós-ativação)

6 MÉTODOS

Os tópicos a seguir apresentarão separadamente os procedimentos experimentais para os dois estudos desenvolvidos ao longo do doutorado.

6.1 Estudo 1 – Revisão sistemática

“Does trans-spinal direct current stimulation modulate the Hoffmann reflexes of healthy individuals? A systematic review and meta-analysis”

6.1.1 Desenho do estudo

Trata-se de uma revisão sistemática de estudos experimentais (ensaios clínicos e crossovers) com metanálise.

6.1.2 Critérios de elegibilidade

Foram incluídos nesta revisão, estudos que: (i) incluíram sujeitos saudáveis, de ambos os sexos, com idade acima de 18 anos; (ii) avaliaram a atividade dos circuitos reflexos espinais

por meio do reflexo de Hoffmann ou por meio da depressão pós-ativação ; (iii) utilizaram como intervenção a estimulação transmedular por corrente contínua anódica ou catódica; (iv) utilizaram como grupo de comparação a estimulação transmedular por corrente contínua fictícia; (v) ensaios clínicos randomizados controlados e estudos do tipo crossover; (vi) estudos publicados em periódicos científicos revisados por pares.

Foram excluídos da revisão estudos que: (i) associaram a estimulação transmedular por corrente contínua a outras técnicas neuromodulatórias como a estimulação magnética transcraniana ou estimulação elétrica periférica; (ii) não forneceram dados referentes as medidas eletrofisiológicas referentes à avaliação dos reflexos medulares monossinápticos; (iii) que submeteram o grupo controle a outras técnicas neuromodulatórias, como as estimulações não-invasivas do sistema nervoso e intervenções comportamentais.

6.1.3 Delineamento metodológico

Inicialmente foi elaborado um protocolo de pesquisa contendo todas as etapas para a realização da revisão sistemática, este, foi registrado adequadamente na base de dados *Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO) podendo ser identificado por meio do protocolo: CRD42017053810. Em seguida, dois avaliadores cegos e independentes (T.M. e P.L.) realizaram a busca dos estudos nas bases de dados e averiguaram à adequação dos estudos aos critérios de elegibilidade. Para os casos de possíveis discordâncias, um terceiro revisor (M.C.) foi consultado.

As etapas de extração dos dados e análises do risco de viés foram realizadas após a etapa de seleção e também contaram com o auxílio de um terceiro revisor para os casos onde houvesse dúvida sobre a inclusão de possíveis vieses. A última etapa da pesquisa foi constituída da elaboração da metanálise para cada uma das polaridades da ETMCC ativa (anódica ou catódica) em comparação a ETMCC sham (ou fictícia).

6.1.4 Procedimentos experimentais

A pergunta condutora para esta revisão foi: “A estimulação transmedular por corrente contínua é capaz de alterar a excitabilidade dos reflexos monossinápticos espinais em indivíduos saudáveis?”

6.1.4.1 Revisão da literatura e busca textual

A busca da literatura por artigos potencialmente elegíveis foi realizada nas seguintes bases de dados: PubMed (via MEDLINE), CINAHL (via EBSCO), PsycINFO, Web of Science e LILACS (via BIREME). Todas as buscas foram realizadas sem que houvesse restrição linguística até julho de 2017. Adicionalmente, foram consultadas as listas de referências dos estudos incluídos para a revisão para buscar outros estudos possivelmente elegíveis que não foram encontrados na pesquisa nas bases de dados.

As buscas foram realizadas utilizando descritores e palavras-chave específicas para cada base de dados. De acordo com o *Medical Subject Headings* (MeSH) e para os Descritores em Ciências da Saúde (Decs), foram utilizados os descritores: “*Spinal Cord*”; “*Healthy Volunteers*”; “*Spinal Cord Stimulation*”; “*Humans*” and “*Reflex*”. Adicionalmente, a busca também considerou os termos livres: “*trans-spinal direct current stimulation*” e “*direct current stimulation*”.

Para aumentar a especificidade da busca foram aplicados alguns filtros: “data da publicação (2008 – 2017)” e “espécies (humanos)”. O ano de 2008 foi estabelecido como filtro uma vez que a partir desta data a ETMCC foi utilizada em estudos com seres humanos. Todos os descritores foram combinados por meio do operador booleano “AND” por meio de uma ampla combinação entre os termos (Figura 11).

Medline	#1 “healthy volunteers” AND “spinal cord stimulation” #2 “spinal cord stimulation” AND reflex #3 “healthy volunteers” AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #4 reflex AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #5 “direct current stimulation” AND “spinal cord” #6 humans AND “transcutaneous spinal direct current stimulation”
LILACS	#1 “healthy volunteers” AND “spinal cord stimulation” #2 “spinal cord stimulation” AND reflex #3 “healthy volunteers” AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #4 reflex AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #5 “direct current stimulation” AND “spinal cord” #6 humans AND “transcutaneous spinal direct current stimulation”
Web of Science	#1 “healthy volunteers” AND “spinal cord stimulation” #2 “spinal cord stimulation” AND reflex #3 “healthy volunteers” AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #4 reflex AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #5 “direct current stimulation” AND “spinal cord” #6 humans AND “transcutaneous spinal direct current stimulation”
CINAHL	#1 “healthy volunteers” AND “spinal cord stimulation” #2 “spinal cord stimulation” AND reflex #3 “direct current stimulation” AND spinal cord #4 “healthy volunteers” AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #5 “direct current stimulation” AND “healthy volunteers” #6 humans AND “transcutaneous spinal direct current stimulation”
PsycINFO	#1 “healthy volunteers” AND “spinal cord stimulation” #2 “spinal cord stimulation” AND reflex #3 “healthy volunteers” AND “transcranial spinal direct current stimulation” #4 reflex AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #5 direct current stimulation" AND "spinal cord" #6 humans AND “transcutaneous spinal direct current stimulation”

Figura 11 - combinação dos termos livres e descritores utilizados para a busca dos artigos em cada base de dados da revisão sistemática.

6.1.4.2 Seleção dos estudos e extração dos dados

As etapas de busca e seleção dos estudos foram realizadas segundo o PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*), acesso via <http://www.prisma-statement.org/>.

A seleção inicial dos estudos deu-se pela leitura dos títulos e resumos. A partir desta leitura aqueles que se enquadraram nos critérios de elegibilidade foram selecionados para a leitura completa do texto. Esta última, foi determinante para a conferência dos critérios de inclusão e exclusão dos estudos na etapa de extração dos dados. Como supracitado, as etapas de busca, seleção e extração foram realizadas por dois avaliadores cegos e independentes (T.M.

e P.L.), havendo a possibilidade de consultar um terceiro revisor para os casos de discordância entre os dois primeiros revisores.

Em concordância com a literatura corrente sobre o tema, os revisores consideraram como relevantes para a caracterização dos estudos os seguintes dados: (i) autores, ano e idioma da publicação (ii) desenho do estudo; (iii) características da população; (iv) parâmetros da ETMCC; (v) medida de desfecho avaliada; (vi) média \pm desvio padrão da medida eletrofisiológica avaliada para os grupos experimentais e controle antes e após a ETMCC. Para os casos em que não foi possível obter as informações no manuscrito, os revisores contataram os autores correspondentes. Para os casos em que não foi possível obter os dados referentes as medidas eletrofisiológicas após o contato com os autores correspondentes, os estudos foram excluídos da metanálise.

6.1.5 Avaliação do risco de viés

A avaliação do risco de viés dos estudos incluídos na revisão sistemática foi realizada por dois avaliadores independentes (T.M. e P.L.) de acordo com o capítulo oito do *handbook* da Cochrane para avaliação do risco de viés (HIGGINS *et al.*, 2009 ; ALTMAN & STERNE, 2011). Esta ferramenta analisa as informações descritas pelos estudos quanto à randomização, sigilo de alocação, cegamento dos participantes, perdas, parada precoce do experimento e outras possíveis fontes de vieses. Para cada domínio avaliado os estudos receberam a classificação de: “adequado”, “inadequado”, “não realizado” e “não reportado”. Após a análise individual, os revisores conferiram as classificações e as eventuais divergências foram discutidas com um terceiro revisor independente (M.C.).

Ao final, cada um dos domínios do estudo foi classificado como alto risco de viés, baixo risco de viés e risco de viés incerto. Este último, para os casos onde não foi possível afirmar que todas as medidas necessárias foram tomadas para evitar a inserção de vieses no domínio avaliado.

6.1.6 Processamento e análise dos dados

Para a elaboração da metanálise foi realizado o cálculo da diferença de média padronizada utilizando os valores das medidas eletrofisiológicas obtidos imediatamente após as sessões experimentais (ETMCC anódica e ETMCC catódica) e o grupo controle (ETMCC sham). Para os casos em que os estudos reportaram os resultados em erro padrão (EP), foi

realizada a conversão para desvio padrão (DP) por meio da seguinte equação: $DP = EP * (\sqrt{n})$, onde “n” representa o número de sujeitos avaliados.

O software Review Manager (RevMan 5.3) foi utilizado para calcular o tamanho do efeito da alteração na excitabilidade espinal promovida pela ETMCC. A magnitude do tamanho do efeito foi estabelecida por meio do “d” de Cohen, sendo valores entre 0,2 a 0,3 considerados como “pequeno tamanho de efeito”, valores próximos a 0,5 como de “médio” tamanho de efeito e valores acima de 0,8 como de “grande tamanho de efeito” (COHEN *et al.*, 1991).

Por meio do teste de heterogeneidade, as metanálises foram consideradas homogêneas quando o valor de P foi superior a 0,05 e o índice de heterogeneidade (I^2) apresentou valores de até 25%. Para os casos de elevada heterogeneidade ($I^2 \geq 25\%$) a análise dos dados foi realizada considerando o modelo de efeito randômico e o modelo de efeito fixo para os casos onde a heterogeneidade foi menor ou igual a 25%. Foram realizadas duas metanálises diferentes para estabelecer as comparações entre a ETMCC anódica e a EMTCC catódica com a ETMCC sham. Adicionalmente foi desenvolvida uma análise de sensibilidade para evitar o impacto de fatores confundidores de estudos que apresentassem diferenças metodológicas durante a aquisição das medidas eletrofisiológicas.

6.2 Estudo 2 – Estudo crossover

O estudo desenvolvido nesta etapa do doutorado contribuiu para a elaboração do artigo: *“Effects of repetitive Transcranial Magnetic Stimulation and Trans-spinal Direct Current Stimulation associated with treadmill in spinal cord and cortical excitability of healthy subjects: A triple blind, randomized and sham-controlled study”*

Os métodos apresentados a seguir são referentes apenas as etapas do estudo desenvolvidas pelo discente durante o doutorado.

6.2.1 Desenho, local e período do estudo

A presente pesquisa trata-se de um estudo do tipo crossover, triplo-cego, randomizado, sham-controlado e contrabalanceado. A pesquisa foi realizada no Laboratório de Neurociência Aplicada (LANA) do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e Recife-PE, entre os meses de junho de 2015 e maio de 2017.

6.2.2 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da UFPE – CCS/UFPE, sob o número de CAAE: 41231715.6.0000.5208 (ANEXO I) e registrado no Clinical Trials www.clinicaltrials.gov – Número: NCT02659826 (ANEXO II). Os procedimentos experimentais da pesquisa foram elaborados e desenvolvidos respeitando as diretrizes da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e a Declaração de Helsinki de 1964.

Antes de serem incluídos no estudo, todos os voluntários foram informados sobre os objetivos e procedimentos experimentais da pesquisa, assim como dos possíveis riscos e benefícios da sua participação. Adicionalmente, ressaltou-se que os participantes poderiam se retirar do estudo a qualquer momento, sem que houvesse nenhum prejuízo para com o pesquisador ou com a instituição que sediou o experimento. A inclusão dos voluntários foi efetivada apenas após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (APÊNDICE C).

6.2.3 Amostra e critérios de elegibilidade

O estudo foi composto por uma amostra aleatória com 12 voluntários saudáveis (auto-relato), recrutados por meio de anúncios em redes sociais (mídia digital e impressa). Para que fossem incluídos os indivíduos precisaram atender aos seguintes critérios de inclusão: (i) indivíduos saudáveis de ambos os sexos; (ii) estar na faixa etária entre 18 a 40 anos; (iii) ser destro, com a confirmação atestada por meio do inventário de dominância de Edimburgo (OLDFIELD, 1971); (iv) ser classificado como sedentários ou irregularmente ativos, segundo a versão curta do questionário internacional de atividade física - IPAQ (MATSUDO *et al.*, 2001) e (v) para o sexo feminino, fazer uso de medicação contraceptiva para evitar influências hormonais sobre a excitabilidade das estruturas do sistema nervoso (INGHILLERI *et al.*, 2004; HATTEMER *et al.*, 2007).

Não foram incluídos no estudo os voluntários que possuíssem (i) implante metálico ou qualquer outro dispositivo metálico no crânio, face e/ou coluna vertebral; (ii) mulheres grávidas ou com suspeita de gravidez; (iii) histórico de crises convulsivas e/ou epilepsia; (iv) presença de marca-passo; (v) diagnóstico de distúrbios neurológicos e/ou distúrbio traumato-ortopédico que comprometesse a realização dos procedimentos da pesquisa e (vi) uso de medicações

ansiolíticas, antidepressivas ou qualquer outra substância que altere o nível de excitabilidade do SNC. Todos os critérios de inclusão e exclusão utilizados para a triagem dos indivíduos encontram-se no questionário semi-estruturado elaborado pelo autor (APÊNDICE D).

O cálculo amostral foi estabelecido por meio da ferramenta estatística do *Massachusetts General Hospital Biostatistics Center* (http://hedwig.mgh.harvard.edu/sample_size/js/js_crossover_quant.html). A partir da análise de estudos prévios disponíveis na literatura que avaliara os efeitos da ETMCC e EMTr isoladamente, adotou-se a mínima diferença detectável ($MDD = 1,96 * EP * \sqrt{2}$) e a média do desvio padrão da diferença entre as médias para os resultados da razão H/M (considerando os valores anteriores e imediatamente após as intervenções), para todas as combinações possíveis entre os seis tipos de sessões experimentais. O processo considerou um poder estatístico (β) de 80% e um nível de significância (α) de 5%. Para todas as combinações, o software concluiu ser necessário um total de 13 voluntários. Para que todas as seis sessões fossem atendidas em ordem contrabalanceada foram incluídos 12 voluntários.

Os tópicos a seguir versam sobre os instrumentos utilizados para a avaliação da dominância manual e nível de atividade física utilizados como critérios de inclusão dos indivíduos:

➤ Dominância manual:

Para confirmar a dominância manual, foi realizado o inventário de dominância lateral de Edimburgo. O inventário é constituído por 10 questões que abordam a preferência lateral na realização de 10 atividades motoras normalmente executadas pela maioria das pessoas. O escore final pode atingir 100 pontos, positivos ou negativos. As atividades realizadas pela mão direita são consideradas como valores positivos (+10) e como negativos as realizadas pela mão esquerda (-10). Para as atividades realizadas com as duas mãos, são atribuídos +5 pontos para direita e -5 para esquerda. O índice de preferência manual foi dado pelo somatório dos valores, onde maior que +70 a dominância foi à direita e menor ou igual a -70 a dominância manual foi à esquerda (OLDFIELD, 1971).

➤ Nível de atividade física:

Os indivíduos foram classificados em relação ao nível de atividade física segundo a versão curta do IPAQ. O questionário é composto por quatro perguntas sobre o tempo que o

entrevistado gastou desempenhando as atividades físicas na última semana. As perguntas foram referentes às atividades ocorridas no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das ocupações da casa ou do jardim. Cada pergunta é subdividida quanto à frequência e à execução das ações.

A atividade física pode ser classificada em três categorias: “atividades físicas vigorosas” como aquelas que precisam de um grande esforço físico e que aceleram a frequência respiratória, “atividades físicas moderadas” as que requerem algum esforço físico e implicam em uma frequência cardíaca um pouco mais forte que o normal e as atividades de “caminhada”. No entanto, apenas as atividades realizadas por pelo menos 10 minutos contínuos são consideradas. Dessa forma, o IPAQ classifica os indivíduos como “muito ativos”, “ativos”, “irregularmente ativos” ou “sedentários”, de acordo com as respostas para frequência e duração das atividades (MATSUDO *et al.*, 2001).

6.2.4 Delineamento metodológico

Os voluntários elegíveis, após concederem a autorização para participação no estudo por meio da assinatura do TCLE, foram convidados a participar de seis sessões experimentais diferentes mensurações da excitabilidade medular antes, imediatamente, 30 minutos e 60 minutos após a aplicação de uma das técnicas de estimulação não-invasiva do SNC (EMTr ou ETMCC) seguida de 20 minutos de caminhada na esteira com intensidade moderada.

A ordem das seis sessões experimentais foi randomizada e contrabalanceada entre os indivíduos por meio de uma tabela de sequência aleatória gerada pelo site www.randomization.com. A fim de manter o sigilo de alocação, a sequência randômica foi realizada por um pesquisador não envolvido com o estudo e mantida em envelopes selados, opacos e numerados sequencialmente.

Adicionalmente, a estimulação não invasiva do SNC foi realizada por um terapeuta que não participou de nenhuma das avaliações e, ao final de cada sessão, tanto o voluntário quanto o avaliador foram questionados em relação a qual grupo de intervenção o voluntário foi alocado, de modo a investigar o sucesso do cegamento. Durante todo o período de coleta e análise dos dados, tanto os voluntários quanto os avaliadores e o estatístico permaneceram cegos quanto à ordem das sessões experimentais e o tipo de estimulação realizada que voluntário foi submetido.

A avaliação da excitabilidade medular foi composta pela avaliação da atividade reflexa de circuitos monossinápticos espinais por meio do reflexo de Hoffmann (rH) e a avaliação dos circuitos inibitórios intra-espinais por meio da análise da depressão pós-ativação (DPa). Estas medidas foram consideradas como desfechos primários para o estudo. As etapas de triagem, randomização, sigilo de alocação, avaliação e procedimentos experimentais e análise dos dados para cada uma das seis sessões do estudo e encontram-se descritos na figura 12

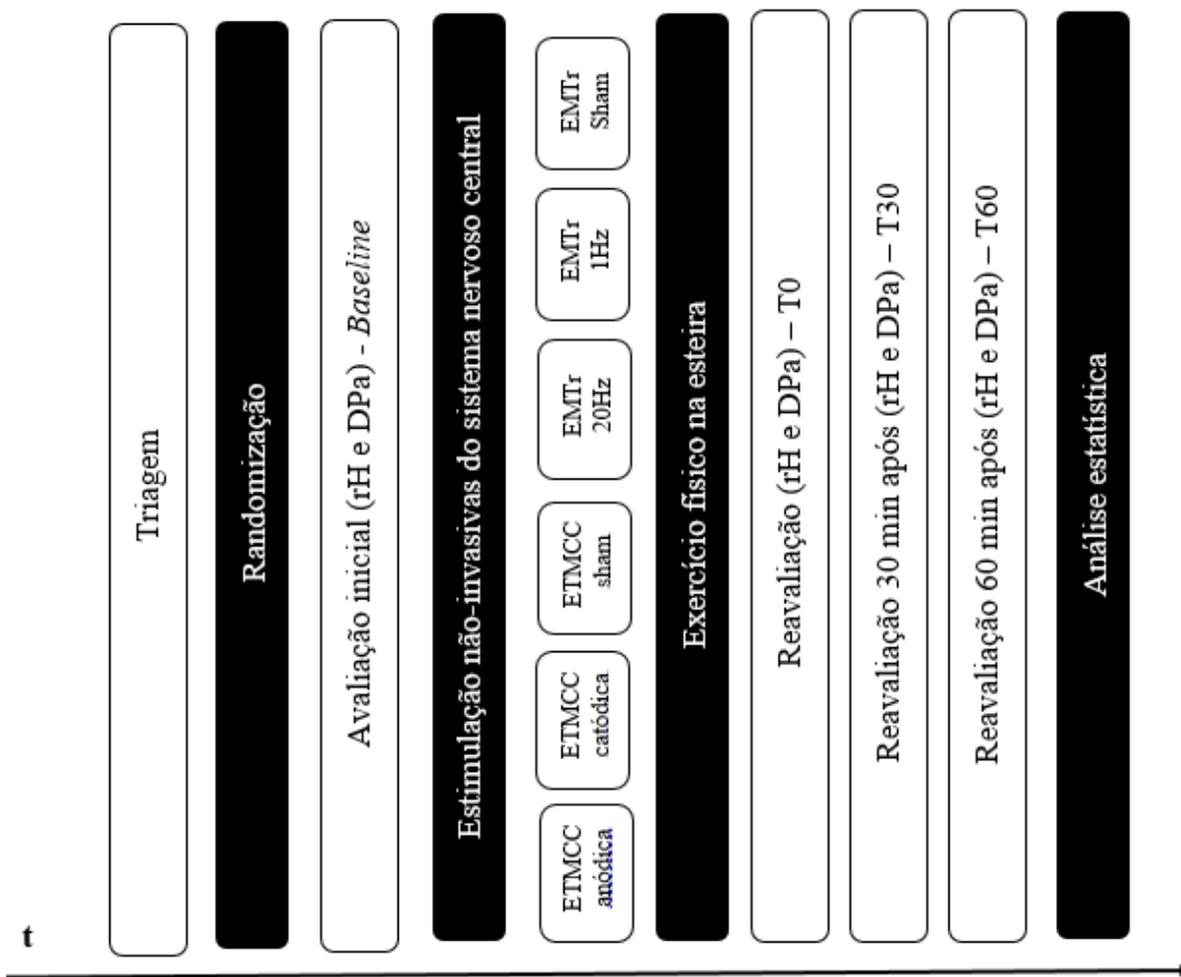


Figura 12 - Desenho do estudo. ETMCC: Estimulação transmedular por corrente contínua, rH: reflexo de Hoffmann, DPa: Depressão pós-ativação, EMTr: Estimulação magnética transcraniana repetitiva.

6.2.5 Procedimentos experimentais

Antes do início das avaliações os voluntários foram convidados a responder um questionário semiestruturado com perguntas sobre dados epidemiológicos (idade, gênero, estado civil, grau de instrução, alimentação e etc) e condição clínica (doenças associadas, histórico de cirurgias e etc) para garantir o controle de influências externas que pudesse interferir na excitabilidade medular. Esta triagem foi realizada por meio da aplicação de um questionário previamente elaborado pelos autores e aplicado de forma clara e objetiva através de uma plataforma online www.typeform.com.

No que diz respeito às perguntas sobre os hábitos alimentares, todos os voluntários foram arguidos acerca da ingestão de alimentos contendo cafeína (quantidade, frequência e tipo de alimentos) durante as últimas 24 horas. Antes da entrevista, os indivíduos foram instruídos a relatar informações sobre a qualidade e a quantidade de horas de sono na noite anterior de cada avaliação. Durante todo o estudo, os voluntários foram orientados a não modificar sua alimentação e horas de sono habituais, a fim de manter seu padrão de excitabilidade comparável. Sempre que o voluntário apresentava alteração considerável nos seus hábitos de sono e alimentação, a coleta era remarcada. Além disso, as coletas foram sempre realizadas no mesmo momento do dia para evitar influência do ritmo circadiano. Todas as informações sobre o estado basal, hábitos de sono e alimentação e informações complementares foram registrados em uma ficha de evolução elaborada pelo autor (APÊNDICE E).

Cada uma das seis sessões experimentais foi realizada com um intervalo mínimo de sete dias entre elas (período de *washout*). As sessões foram constituídas por cinco etapas: (i) aplicação do questionário sobre ingestão de alimentos e hábitos que possivelmente poderiam alterar a excitabilidade do sistema nervoso central; (ii) avaliação da excitabilidade medular; (iii) aplicação do protocolo específico de estimulação não invasiva do SNC (EMTr ou ETMCC); (iv) aplicação do protocolo de 20 minutos de exercício físico na esteira (EFE) com intensidade moderada e (v) reavaliações da excitabilidade medular (imediatamente, 30 e 60 minutos após as intervenções). Todos os indivíduos passaram pelas seis sessões, sendo elas em ordem aleatória:

- a) ETMCC anódica associada ao EFE;
- b) ETMCC catódica associada ao EFE;

- c) ETMCC *sham* associada ao EFE;
- d) EMTr de alta frequência associada ao EFE;
- e) EMTr de baixa frequência associada ao EFE;
- f) EMTr *sham* associada ao EFE.

6.2.5.1 Avaliação da excitabilidade medular

A avaliação da excitabilidade medular foi composta por duas medidas: o reflexo de Hoffmann (reflexo-H) e a depressão pós-ativação (DPa). Estas medidas foram avaliadas antes (*baseline*), imediatamente (T0), 30 minutos (T30) e 60 minutos (T60) após a aplicação da estimulação do sistema nervoso e do exercício na esteira. Antes de iniciar a avaliação, todos os indivíduos foram posicionados confortavelmente em uma sala silenciosa na posição de decúbito ventral para limpeza da pele e disposição adequada dos eletrodos de superfície para captação do sinal eletromiográfico. O joelho e o tornozelo direitos foram flexionados a 30° e 90°, respectivamente. Dois eletrodos de AgCl foram colocados medialmente no músculo sóleo direito a uma distância de cinco e sete centímetros abaixo da cabeça medial do músculo gastrocnêmio, com uma distância entre os eletrodos de 2 cm (WINKLER ; HERING & STRAUBE, 2010). Um eletrodo terra (eletrodo de referência) foi posicionado no ponto equivalente à metade da distância entre a linha poplítea e o eletrodo situado cinco centímetros abaixo cabeça medial do músculo gastrocnêmio (Figuras 13 e 14).

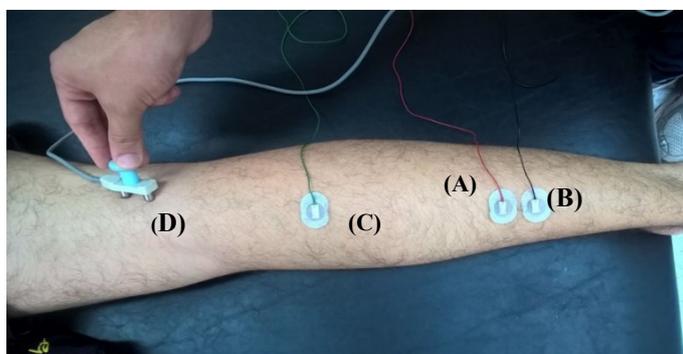


Figura 13 - Disposição dos eletrodos para a captação da atividade eletromiográfica e estimulação do reflexo-H e da DPa. **A.** Eletrodo positivo no ventre muscular do músculo sóleo. **B.** Eletrodo negativo fixado a dois centímetros de distância centro a centro do eletrodo positivo. **C.** Eletrodo terra situado medialmente entre a linha poplítea e o eletrodo A. **D.** Eletrodo de estimulação bipolar com o cátodo posicionado para proximal e diagonalmente mais lateral que o ânodo na perna direita. Fonte: o autor.

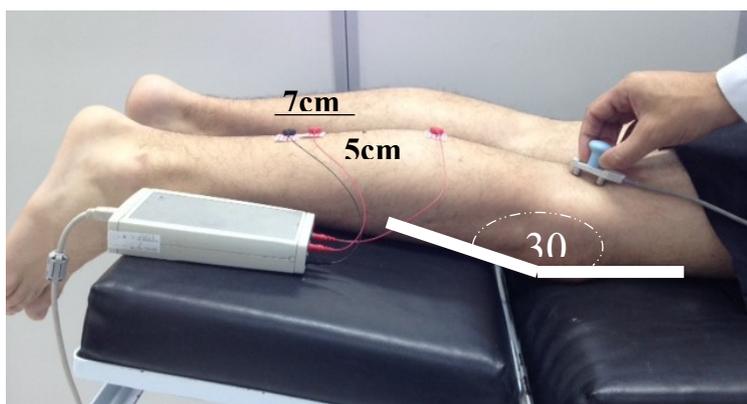


Figura 14 – Posicionamento dos indivíduos para captação do reflexo – H e depressão pós-ativação. Fonte: o autor.

O reflexo-H (rH) e a DPa foram evocados por meio da liberação de uma série de pulsos simples sobre o nervo tibial posterior, com um formato de onda retangular e 1 ms de duração (COGIAMANIAN *et al.*, 2011). Um eletrodo bipolar foi posicionado na fossa poplíteica, com o eletrodo ânodo sobre a linha poplíteica e o cátodo posicionado acima e lateralmente ao ânodo (WINKLER ; HERING & STRAUBE, 2010). O estimulador elétrico (Neuro-Mep-8, Neurosoft®, Rússia) foi utilizado em todas as avaliações da excitabilidade medular e o software Neuromep.Net Ômega foi utilizado para análise dos registros eletromiográficos.

6.2.5.2 Reflexo de Hoffmann

As informações referentes ao limiar do reflexo-H (LrH), máxima amplitude do reflexo-H (rH máx) e máxima amplitude da onda M (M máx) foram extraídas da curva de recrutamento construída a partir da liberação de pulsos retangulares com 1,0 ms de duração, de intensidade progressiva a passos de 1 mA e intervalos interestímulo de 12 segundos (COGIAMANIAN *et al.*, 2011). Os registros eletromiográficos foram obtidos entre a faixa de 5 - 10000 Hz, a uma taxa de amostragem de 20.000 Hz. Durante toda a avaliação foram tomados os devidos cuidados para que impedância elétrica fosse mantida em valores inferiores a 3 k Ω . A razão entre a amplitude do reflexo-H máximo e a máxima amplitude da onda M (rH máx/M máx) foi considerada durante a análise estatística para diminuir as variações fisiológicas entre os indivíduos (Figura 15).

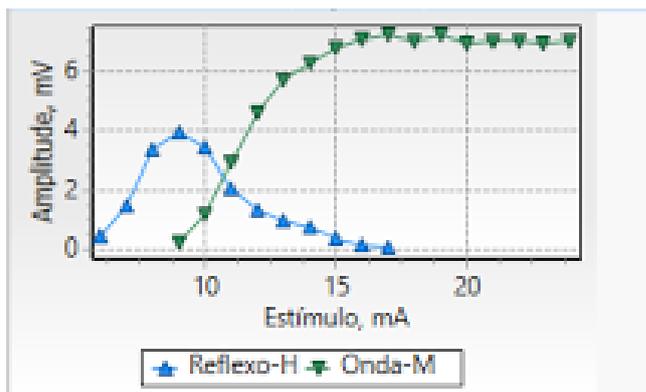


Figura 15 – Curva de recrutamento do reflexo de Hoffmann. Linha com triângulos representa as respostas referentes a onda H e a linha com triângulos invertidos representa as respostas da onda M. Fonte: o autor.

6.2.5.3 Depressão pós-ativação (DPa)

O método utilizado para obtenção da depressão pós-ativação a partir da curva de recuperação do reflexo-H foi previamente descrito por Panizza e colaboradores (1995). Pares de estímulos elétricos, com intensidade igual à necessária para elicitar um reflexo H máximo, foram liberados obedecendo os seguintes intervalos interestímulo: 150, 200, 250 e 300 milissegundos. Estes intervalos foram escolhidos por serem considerados ‘momentos de pico’ para recuperação da depressão pós-ativação (PANIZZA *et al.*, 1995). Para que não houvesse recuperação total do reflexo, foi obedecido um intervalo mínimo de 12 segundos entre cada par de estímulos.

Cada unidade de estímulo liberado gerou uma resposta de onda M e uma resposta de reflexo H de máxima amplitude. Foram consideradas as amplitudes pico-a-pico da resposta H proveniente do primeiro estímulo, reflexo H não condicionado (HNC) e a resposta H proveniente da liberação do segundo estímulo, reflexo H condicionado (HC). Para fins de análise, foi calculada a razão entre o reflexo H condicionado e o reflexo H não condicionado (HC/HNC) (Figura 16). Ou seja, a média e os desvios padrões da razão H2/H1 foram apresentados separadamente para cada um dos intervalos interestímulo (PANIZZA *et al.*, 1995). Para cada intervalo interestímulo foram realizadas cinco estimulações.

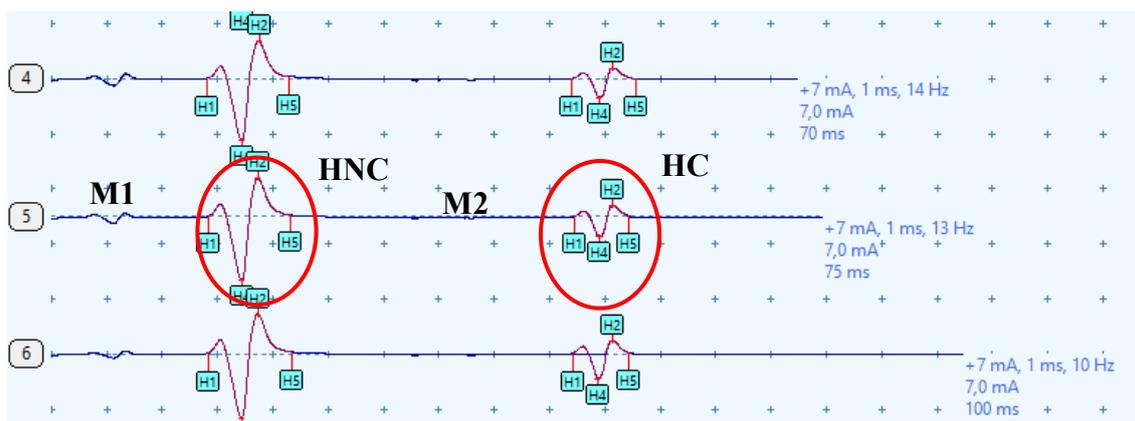


Figura 16 – Avaliação da depressão pós-ativação a partir da liberação de pares de pulsos. **M1** - Resposta da onda M para o estímulo não-condicionado. **HNC** - Resposta reflexa H do estímulo não-condicionado (H1). **M2** - Resposta da onda M do estímulo condicionado. **HC** - Resposta do reflexo H do estímulo condicionado (H2). Fonte: o autor

6.2.5.4 Estimulações não invasivas do SNC

Após a avaliação da excitabilidade medular todos os indivíduos foram submetidos a seis sessões experimentais contendo uma das seguintes técnicas de estimulação não-invasivas do SNC: ETMCC anódica, ETMCC catódica, ETMCC sham, EMTr 20 Hz, EMTr 1Hz e EMTr sham. Todos os indivíduos passaram por todas as condições. Os procedimentos e parâmetros para a aplicação da ETMCC e EMTr estão descritos a seguir:

- Estimulação Transmedular por Corrente Contínua (ETMCC)

Para a ETMCC, uma corrente direta com intensidade de 2,5 mA foi aplicada durante 20 minutos (densidade de corrente: 0,071 mA/cm²) por meio de um estimulador elétrico (Neuroconn®/Alemanha). Esta densidade é considerada segura para indivíduos adultos (PRIORI *et al.*, 2014). Para todas as montagens da ETMCC, o estimulador elétrico foi conectado a dois eletrodos (ânodo e cátodo) revestidos por uma esponja sintética embebida em solução salina com dimensões de 5 cm x 7 cm (35 cm²).

Na sessão de ETMCC catódica, o centro do cátodo foi posicionado entre os processos espinhosos da décima primeira e décima segunda vértebras torácicas (espaço intervertebral T11-T12) e o ânodo posicionado sobre o ombro direito (Figura 17). Na sessão de ETMCC

anódica, o ânodo foi posicionado sobre o espaço intervertebral T11-T12 e o cátodo sobre o ombro direito (HUBLI *et al.*, 2013).

Para realização da sessão contendo a estimulação fictícia (sham), o aparelho de estimulação foi programado para desligar após 30 segundos de estimulação sem que houvesse a percepção do voluntário (COGIAMANIAN *et al.*, 2011). Este período de rampa é suficiente para produzir as mesmas sensações de uma estimulação real, sendo incapaz de induzir efeitos neuromodulatórios (NITSCHKE *et al.*, 2008).

Após o término de cada sessão de ETMCC, os voluntários responderam a um questionário sobre possíveis efeitos adversos (BRUNONI *et al.*, 2011) e foram arguidos quanto a percepção do tipo de estimulação (real ou fictícia) (Anexo III).



Figura 17 – Estimulador elétrico utilizado para aplicação da Estimulação Transmedular por Corrente Contínua e montagem dos eletrodos. **A.** Um eletrodo posicionado entre os processos espinhosos da décima primeira e décima segunda vértebras torácicas. **B.** Outro eletrodo posicionado sobre o músculo deltoide. Fonte: o autor.

- Estimulação Magnética Transcraniana repetitiva (EMTr)

A EMTr foi aplicada em três diferentes modalidades: i) EMTr de alta frequência, 20 Hz; ii) EMTr de baixa frequência, 1Hz e iii) EMTr sham (fictícia). O protocolo de EMTr de alta frequência foi adaptado de Benito e colaboradores (2012). A estimulação foi entregue por uma bobina conectada a um estimulador magnético (Rapid Magstin®). Adotou-se uma bobina em forma de 8 (70 mm de diâmetro), segurada manualmente sobre o escalpo, a uma angulação de 45 graus com o plano sagital e borda anterior direcionada para a região anterior do crânio.

Anteriormente a EMTr, foi determinado o limiar motor de repouso (LMR) do músculo primeiro interósseo dorsal (PID) no córtex motor primário do hemisfério cerebral esquerdo. O LMR foi definido como a menor intensidade de um pulso simples de EMT necessário para provocar um potencial evocado motor de pelo menos 50mV, confirmado por eletromiografia de superfície (GALVÃO *et al.*, 2014).

Para avaliação do LMR, todos os indivíduos foram acomodados em uma cadeira acolchoada em um ambiente silencioso, com altura e angulação reguláveis e suporte para os braços e a cabeça. O ponto C3 do sistema internacional de marcação 10/20 para eletroencefalograma foi utilizado como referência para auxiliar na identificação do córtex motor primário (M1). A partir da liberação de pulsos únicos de um estimulador magnético (Neuro-MS) identificou-se a área de resposta eletromiográfica de maior amplitude do PID (*hotspot*).

Para captação das respostas eletromiográficas, os eletrodos de captação foram posicionados sobre o ventre do PID e sobre a articulação interfalangeana do polegar, e o eletrodo de referência sobre o processo estilóide da ulna (Figura 18). Todos os cuidados para a aquisição do sinal eletromiográfico foram tomados de acordo com os critérios do *Surface Electromyography for the Non-invasive Assessment of Muscles* (SENIAM) (STEGEMAN & HERMENS, 2007). O eletromiógrafo NeuroMep Micro®, Neurosoft-Rússia foi usado para análise das respostas eletromiográficas e o software EMT Motor Threshold Assessment Tool (MTAT 2.0) para determinação da intensidade de saída do estimulador necessária para avaliação do LMR.

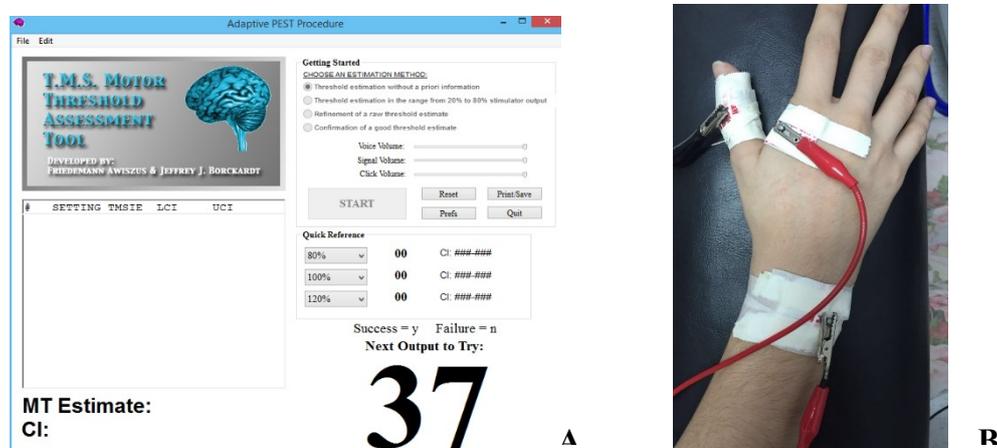


Figura 18- Software utilizado para estabelecimento da intensidade de saída do estimulador para determinação do limiar motor de repouso e montagem dos eletrodos para captação da atividade eletromiográfica. **A.** EMT Motor Threshold Assessment Tool (MTAT 2.0). **B.** eletrodo

vermelho: sobre o ventre muscular do primeiro interósseo dorsal; eletrodo preto: interfalângiana do primeiro quirodáctilo; eletrodo de referência: processo estiloide do rádio. Fonte: o autor

Após a determinação do LMR, o estimulador magnético foi configurado com uma intensidade de saída do estimulador equivalente a 90% do LMR. A frequência da estimulação e número de pulsos variaram de acordo com o tipo de estimulação: EMTr de alta frequência, baixa frequência ou sham. O protocolo estabelecido para a EMTr de baixa frequência foi composto por 1500 pulsos liberados a uma frequência de 1 Hz (GALVÃO *et al.*, 2014), enquanto que o protocolo para a EMTr de alta frequência utilizou da mesma intensidade de saída do estimulador e foi composto por 1800 pulsos entregues através de 45 trens com duração de 2s cada (40 pulsos/trem), liberados a uma frequência de 20Hz (BENITO *et al.*, 2012). Estes protocolos foram baseados em estudos prévios que avaliaram a excitabilidade medular após a aplicação da EMTr em populações com sequelas de agravos no sistema nervoso central (BENITO *et al.*, 2012; GALVÃO *et al.*, 2014) e estão descritos na figura 19.

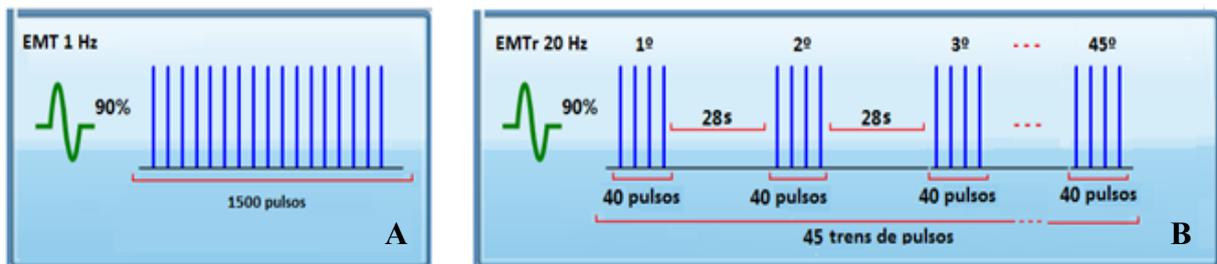


Figura 19 - Parâmetros utilizados durante a estimulação magnética transcraniana repetitiva (EMTr). **A.** Configurações para a EMTr de baixa frequência. **B** Configurações para a EMTr de alta frequência. Fonte: acervo LANA.

Para a aplicação da EMTr sham foram utilizadas duas bobinas. Uma delas foi conectada ao estimulador e posicionada atrás do voluntário (longe do escalpo) gerando o som

característico da estimulação. A outra bobina, desacoplada do equipamento, foi posicionada sobre o escalpo do indivíduo (Figura 20).



Figura 20 - Aplicação da estimulação magnética transcraniana (EMTr). **A.** Equipamento de Estimulação Magnética Transcraniana repetitiva (MagStim Rapid² magnetic stimulator/UK). **B.** Montagem para a EMTr real. **C.** Montagem para EMTr ficícia (*sham*). Fonte: acervo LANA.

- Exercício físico na esteira (EFE)

Após a aplicação da estimulação não invasiva do SNC, os voluntários foram submetidos a um protocolo de exercício físico na esteira (Gait training - Biodex). O protocolo foi constituído de uma caminhada com intensidade moderada e duração total de 20 minutos, com posicionamento livre dos membros superiores.

Para garantir que o EFE fosse executado na intensidade moderada foram utilizadas duas estratégias: o controle da frequência cardíaca (FC) e a avaliação da percepção subjetiva do esforço (PSE). Para o controle da FC inicialmente foi calculada a frequência cardíaca máxima (FC max) por meio da fórmula: $FC\ max = 220 - idade\ do\ voluntário$. Durante toda a execução da caminhada a frequência cardíaca foi monitorada por meio de um polar cardíaco (Polar RS800, Polar Electro- Kempele, Finlândia) e mantida entre 64% a 76% da FC max (GARBER *et al.*, 2011).

O controle da percepção subjetiva do esforço foi realizado por meio da aplicação da escala modificada de Borg a cada três minutos após o início da caminhada. A escala de Borg possui uma pontuação que varia de 6 (exercício de intensidade muito leve) a 20 pontos (exercício exaustivo). O intervalo entre 10 a 14 pontos foi adotado como referência para que a caminhada fosse percebida pelo voluntário como uma atividade de esforço moderado (BORG;

HASSMÉN & LAGERSTRÖM, 1987). Quando necessário, a velocidade e a inclinação da esteira foram ajustadas a cada três minutos para que a frequência cardíaca e a PSE permanecessem dentro dos limites esperados para uma intensidade de exercício de intensidade moderada. As condições necessárias para realizar a caminhada na esteira e monitoramento da intensidade do exercício encontram-se descritos na figura 21.

Ressalta-se que a caminhada na esteira com intensidade moderada foi incluída devido a sua capacidade de promover efeitos neuromodulatórios no trato corticoespinal (SURUAGY *et al.*, 2017) e por constituir uma prática comum nos protocolos de reabilitação. O protocolo de exercício já foi previamente descrito em estudo anterior (KUMRU *et al.*, 2010) e durante toda a execução da atividade todos os indivíduos foram orientados a não correr.



Figura 21 - Exercício físico na esteira. **A.** Controle da percepção subjetiva do esforço com a escala modificada de Borg. **B.** Controle da frequência cardíaca com polar. **C.** Painel para o controle da velocidade e inclinação da esteira. Fonte: acervo LANA.

6.2.6 Processamento e análise dos dados

Uma análise descritiva foi realizada para caracterização da amostra e a ANOVA *one-way* (como *post hoc* LSD) foi empregada para verificar diferenças entre as condições baseline para cada uma das seis sessões experimentais.

Para análise das medidas utilizadas na avaliação da excitabilidade espinal, todos os valores obtidos após a estimulação foram normalizados pela condição *baseline* (normalização intra-indivíduo). Em relação a análise dos dados referentes à depressão pós-ativação, foram selecionados os intervalos inter-estímulos de 150 ms, 200 ms, 250 ms e 300 ms como os potenciais picos de recuperação na curva de recrutamento do reflexo H (PANIZZA *et al.*, 1995).

A distribuição dos dados foi testada através do teste de Shapiro-Wilk. Para a análise da amplitude do reflexo de Hoffman (Hr max/ M max) e para a depressão pós-ativação entre os diferentes tempos e sessões foi utilizada a ANOVA de medidas repetidas (6 x 4) utilizando os fatores: estimulação (ETMCC anódica, ETMCC catódica, ETMCC sham, EMTr 20 Hz, EMTr 1 Hz e EMTr sham) e tempo (baseline, imediatamente, 30 minutos e 60 minutos após a estimulação). Quando apropriado, o teste t-pareado foi utilizado como pós-teste para identificação de possíveis diferenças entre as sessões e/ou tempos. A esfericidade foi testada pelo teste de Mauchly e a correção de Greenhouse-Geisser foi utilizada quando necessário.

A magnitude do efeito foi determinada pelo teste do tamanho do “d” de Cohen (comparação com a estimulação sham). Foi considerado um pequeno tamanho de efeito valores de “d” ≤ 0.2 . Valores de “d” entre 0.5 a 0.7 foram considerados como de tamanho de efeito moderado e valores “d” ≥ 0.8 como “grande” tamanho de efeito. Todas as análises foram realizadas no pacote estatístico *Statistical Package for Social Sciences* (versão 20.0, SPSS Inc, Chicago IL, USA). Um “P” valor < 0.05 foi considerado como significativo para todas as análises estatísticas.

7 RESULTADOS

Os resultados deste estudo estão apresentados na forma de dois artigos originais:

7.1 Artigo original 1

“Does trans-spinal direct current stimulation modulate the Hoffmann reflexes of healthy individual? A systematic review and meta-analysis”

Este artigo (APÊNDICE A) foi elaborado de acordo com os objetivos e metodologia do estudo 1 desta tese e foi submetido à revista *Spinal Cord* (qualis B1 para a área de Medicina II da CAPES, fator de impacto 1.87).

7.2 Artigo original 2

“Effects of repetitive Transcranial Magnetic Stimulation and Trans-spinal Direct Current Stimulation associated with treadmill in spinal cord and cortical excitability of healthy subjects: A triple blind, randomized and sham-controlled study”

Este estudo (APÊNDICE B) foi elaborado de acordo com os objetivos e metodologia do estudo 2 desta tese e acrescido de informações já existentes de estudos anteriores desenvolvidos pelo grupo de pesquisa no qual o autor é integrante. O artigo foi submetido à revista PLOS ONE (qualis A2 para a área de Medicina II da CAPES, fator de impacto 3,54).

Os resultados descritos abaixo são referentes à caracterização da amostra, amplitude do reflexo de Hoffmann e depressão pós-ativação do estudo dois e a discussão destes achados encontram-se descritos na discussão do segundo artigo original desta tese (APÊNDICE B).

7.2.1 Caracterização da amostra

Doze indivíduos saudáveis (6 homens, idade média $27,75 \pm 2,77$ anos) completaram o estudo (Tabela 1 do apêndice B). Três indivíduos (25%) foram considerados como “sedentários” de acordo com o IPAQ e nove (75%) como “irregularmente ativos”. Todos os procedimentos experimentais foram bem tolerados pelos voluntários, apenas alguns efeitos colaterais como coceira e formigamento leves foram reportados por alguns voluntários no início da estimulação com a ETMCC na região imediatamente abaixo dos eletrodos. Nenhuma

diferença foi detectada pelos voluntários ou pelos avaliadores entre as estimulações sham e reais ou em relação à polaridade dos eletrodos.

Os doze participantes foram submetidos a todas as estimulações e nenhum indivíduo abandonou o estudo antes do término. O fluxograma contendo as etapas de triagem e seleção dos indivíduos incluídos no estudo está descrito na figura 1 (Figura 1 do apêndice B).

No momento *baseline*, a ANOVA de medidas repetidas revelou não haver diferença entre as seis sessões para as variáveis amplitude de H_{max} / M_{max} ($F = 0,33$; $p = 0,89$) e variáveis de controle (Tabela 1 do apêndice B).

7.2.2 Amplitude da razão H max / M max

A ANOVA para medidas repetidas revelou efeito significativo para o fator tempo ($F = 4,81$; $p = 0,007$) para a amplitude de H max / M max. A análise por meio do teste t pareado (pós-teste) revelou uma diminuição significativa na amplitude de H max / M max imediatamente (diferença de média = 0,152; IC 95% 0,06 a 0,25; $p = 0,005$) e 30 minutos (diferença de média = 0,12; IC 95% 0,04 a 0,21; $p = 0,013$) após a sessão contendo ETMCC anódica associada ao exercício em esteira (Figura 2A do apêndice B) e imediatamente (diferença de média = 0,12; IC 95% 0,04 a 0,26; $p = 0,017$) e 30 minutos (diferença de média = 0,11; IC 95% 0,10 a 0,21; $p = 0,034$) após EMTr 20Hz associada ao exercício quando comparada aos valores obtidos no momento *baseline* (Figura 2B do apêndice B).

7.2.3 Depressão pós-ativação (DPa)

Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada para a comparação entre os valores médios da DPa em relação entre as sessões contendo as estimulações ativas e fictícia e na análise ao longo do tempo para os intervalos interestímulo de 150 ms, 200 ms, 250 ms e 300 ms (Tabela 2 do apêndice B).

8 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados apresentados no primeiro estudo desta tese, pode-se concluir que tanto a ETMCC anódica quanto a ETMCC catódica, quando aplicadas isoladamente em uma única sessão, não são capazes de provocar mudanças significativas na excitabilidade de reflexos monossinápticos espinais em indivíduos saudáveis.

Além das conclusões obtidas a partir da análise do reflexo de Hoffmann, alguns estudos reportaram alterações em outras medidas eletrofisiológicas utilizadas para avaliar arcos reflexos polissinápticos e a velocidade de condução na medula após a ETMCC. Estas informações sugerem que o efeito da estimulação transmedular por corrente contínua pode ser resultado de modificações de circuitos neurais mais complexos envolvendo mecanismos modulatórios supra-espinais ou da modulação de circuitos inibitórios intra-espinais devido a alterações na liberação de neurotransmissores. Tanto os circuitos neurais mais complexos, ou de “alça longa, quanto os circuitos inibitórios intra-espinais não são medidas avaliadas diretamente pelo reflexo de Hoffmann, portanto, os resultados obtidos pela metanálise não são representativos para estas medidas.

Outro aspecto importante a ser ressaltado é a similaridade entre os protocolos de estimulação utilizados pelos estudos incluídos e a introdução de erros sistemáticos importantes durante as fases de seleção dos pacientes, randomização, alocação e cegamento dos avaliadores e participantes. A utilização de protocolos semelhantes forneceu uma baixa heterogeneidade durante a elaboração da metanálise, proporcionando maior validade interna aos nossos resultados e a comparabilidade entre os resultados apresentados pelos estudos incluídos. No entanto, a introdução de vieses durante a execução dos estudos podem ter “superestimado” os efeitos da ETMCC, o que explicaria os resultados encontrados em dois dos estudos que apontaram alterações significativas na excitabilidade reflexa quando comparado à condição inicial.

Até o momento, este é o primeiro estudo que investigou de forma sistemática os estudos que avaliaram os efeitos da ETMCC sobre circuitos reflexos monossinápticos espinais. Os resultados obtidos por este estudo demonstram a necessidade de um maior rigor metodológico nos estudos com a ETMCC, especialmente durante as fases de seleção, alocação e randomização dos pacientes e condução do estudo. Adicionalmente, os resultados da revisão sinalizam para a necessidade da inclusão de outras medidas eletrofisiológicas além do reflexo

de Hoffmann em futuros estudos que se proponham a avaliar os efeitos da ETMCC em indivíduos saudáveis.

Em relação aos resultados obtidos no estudo dois, verificou-se que a ETMCC anódica e a EMTr 20Hz quando associados ao exercício na esteira foram capazes de reduzir a amplitude do reflexo de Hoffmann por até 30 minutos após o término da estimulação quando comparadas a condição *baseline*. No entanto, nenhuma das associações entre o exercício na esteira e as montagens de ETMCC ou de EMTr foram capazes de modificar os valores de depressão pós-ativação.

A principal limitação deste estudo consiste na ausência de um grupo experimental contendo apenas as técnicas de ETMCC ou EMTr. A inclusão de mais uma sessão experimental forneceria resultados mais elucidativos quanto a atuação de possíveis mecanismos de metaplasticidade provenientes da combinação entre as técnicas de estimulação não invasiva do sistema nervoso central e o exercício na esteira.

Como pontos fortes deste estudo, pode-se destacar o caráter inovador da metodologia empregada, uma vez que este foi o primeiro estudo que verificou os efeitos de diferentes montagens de ETMCC e EMTr associadas ao exercício sobre a excitabilidade medular. Também se ressalta o rigor metodológico empregado durante as fases de seleção, alocação, randomização e condução do estudo, além de avaliadores cegos e independentes para aplicação das técnicas e análise dos dados. Todos estes cuidados garantem maior validade interna aos resultados e permite a comparabilidade com futuros estudos que almejem adotar protocolos de estimulação semelhantes.

Como perspectivas futuras, novos estudos devem avaliar os efeitos da associação entre as técnicas de estimulação não invasivas do sistema nervoso central apontadas e protocolos de exercícios com variações de intensidade e complexidade da tarefa sobre a excitabilidade medular. Dentre os desfechos avaliados devem ser considerados as respostas do reflexo H e medidas para a depressão pós-ativação. Adicionalmente, os efeitos da associação das técnicas devem ser avaliados em estudos com populações cujo objetivo terapêutico seja a reabilitação da marcha ou auxiliar na regulação da atividade reflexa. Estes estudos devem conter dentre os seus desfechos, medidas neurofisiológicas para avaliação da excitabilidade medular e medidas como funcionalidade de membros inferiores, recuperação sensório-motora, qualidade de vida, análise cinemática da marcha e da espasticidade.

REFERÊNCIAS

- ADA, L.; DORSCH, S.; CANNING, C. G. Strengthening interventions increase strength and improve activity after stroke: a systematic review. **Australian Journal of Physiotherapy**, 52, 4, 241-248, 2006.
- AGUILAR, J.; PULECCHI, F.; DILENA, R.; OLIVIERO, A.; PRIORI, A.; FOFFANI, G. Spinal direct current stimulation modulates the activity of gracile nucleus and primary somatosensory cortex in anaesthetized rats. **The Journal of physiology**, 589, 20, 4981-4996, 2011.
- AHMED, Z. Trans-spinal direct current stimulation modulates motor cortex-induced muscle contraction in mice. **Journal of Applied Physiology**, 110, 5, 1414-1424, 2011.
- AHMED, Z. Effects of cathodal trans-spinal direct current stimulation on mouse spinal network and complex multijoint movements. **Journal of Neuroscience**, 33, 37, 14949-14957, 2013.
- AHMED, Z.; WIERASZKO, A. Trans-spinal direct current enhances corticospinal output and stimulation-evoked release of glutamate analog, D-2, 3-3H-aspartic acid. **Journal of Applied Physiology**, 112, 9, 1576-1592, 2012.
- BARKER, A. T.; JALINOUS, R.; FREESTON, I. L. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. **The Lancet**, 325, 8437, 1106-1107, 1985.
- BENITO, J.; KUMRU, H.; MURILLO, N.; COSTA, U.; MEDINA, J.; TORMOS, J.; PASCUAL-LEONE, A.; VIDAL, J. Motor and gait improvement in patients with incomplete spinal cord injury induced by high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation. **Topics in spinal cord injury rehabilitation**, 18, 2, 106-112, 2012.
- BERARDELLI, A.; INGHILLERI, M.; ROTHWELL, J.; ROMEO, S.; CURRA, A.; GILIO, F.; MODUGNO, N.; MANFREDI, M. Facilitation of muscle evoked responses after repetitive cortical stimulation in man. **Experimental brain research**, 122, 1, 79-84, 1998.
- BICAN, O.; MINAGAR, A.; PRUITT, A. A. The spinal cord: a review of functional neuroanatomy. **Neurologic clinics**, 31, 1, 1-18, 2013.
- BOCCI, T.; VANNINI, B.; TORZINI, A.; MAZZATENTA, A.; VERGARI, M.; COGIAMANIAN, F.; PRIORI, A.; SARTUCCI, F. Cathodal transcutaneous spinal direct current stimulation (tsDCS) improves motor unit recruitment in healthy subjects. **Neuroscience letters**, 578, 75-79, 2014.
- BOLOGNINI, N.; PASCUAL-LEONE, A.; FREGNI, F. Using non-invasive brain stimulation to augment motor training-induced plasticity. **Journal of neuroengineering and rehabilitation**, 6, 1, 8, 2009.
- BOORMAN, G.; BECKER, W. J.; MORRICE, B.-L.; LEE, R. G. Modulation of the soleus H-reflex during pedalling in normal humans and in patients with spinal spasticity. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, 55, 12, 1150-1156, 1992.
- BORG, G.; HASSMÉN, P.; LAGERSTRÖM, M. Perceived exertion related to heart rate and blood lactate during arm and leg exercise. **European journal of applied physiology and occupational physiology**, 56, 6, 679-685, 1987.
- BORGENS, R. B.; ROEDERER, E.; COHEN, M. J. Enhanced spinal cord regeneration in lamprey by applied electric fields. **Science**, 213, 4508, 611-617, 1981.
- BOUTILIER, G.; SAWATZKY, B.; GRANT, C.; WIEFELSPUETT, S.; FINLAYSON, H. Spasticity changes in SCI following a dynamic standing program using the Segway. **Spinal cord**, 50, 8, 595-598, 2012.

- BRADLEY, J. K.; NYEKIOVA, M.; PRICE, D. L.; LOPEZ, L.; CRAWLEY, T. Occupational exposure to static and time-varying gradient magnetic fields in MR units. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, 26, 5, 1204-1209, 2007.
- BROWN, K.; NEVA, J.; LEDWELL, N.; BOYD, L. Use of transcranial magnetic stimulation in the treatment of selected movement disorders. **Degenerative Neurological and Neuromuscular Disease**, 4, 133, 2014.
- BRUNONI, A. R.; AMADERA, J.; BERBEL, B.; VOLZ, M. S.; RIZZERIO, B. G.; FREGNI, F. A systematic review on reporting and assessment of adverse effects associated with transcranial direct current stimulation. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, 14, 8, 1133-1145, 2011.
- BRUSA, L.; VERSACE, V.; KOCH, G.; BERNARDI, G.; IANI, C.; STANZIONE, P.; CENTONZE, D. Improvement of choreic movements by 1Hz repetitive transcranial magnetic stimulation in Huntington's disease patients. **Annals of neurology**, 58, 4, 655-656, 2005.
- BURKE, R. The use of state-dependent modulation of spinal reflexes as a tool to investigate the organization of spinal interneurons. **Experimental brain research**, 128, 3, 263-277, 1999.
- CAPADAY, C. Neurophysiological methods for studies of the motor system in freely moving human subjects. **Journal of neuroscience methods**, 74, 2, 201-218, 1997.
- CENTONZE, D.; KOCH, G.; VERSACE, V.; MORI, F.; ROSSI, S.; BRUSA, L.; GROSSI, K.; TORELLI, F.; PROSPERETTI, C.; CERVELLINO, A. Repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex ameliorates spasticity in multiple sclerosis. **Neurology**, 68, 13, 1045-1050, 2007.
- CHEN, R. Studies of human motor physiology with transcranial magnetic stimulation. **Muscle & nerve**, 23, S9, 2000.
- CHEN, R.; CROS, D.; CURRA, A.; DI LAZZARO, V.; LEFAUCHEUR, J.-P.; MAGISTRIS, M. R.; MILLS, K.; RÖSLER, K. M.; TRIGGS, W. J.; UGAWA, Y. The clinical diagnostic utility of transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee. **Clinical Neurophysiology**, 119, 3, 504-532, 2008.
- COGIAMANIAN, F.; ARDOLINO, G.; VERGARI, M.; FERRUCCI, R.; CIOCCA, M.; SCELZO, E.; BARBIERI, S.; PRIORI, A. Transcutaneous spinal direct current stimulation. 2012.
- COGIAMANIAN, F.; VERGARI, M.; PULECCHI, F.; MARCEGLIA, S.; PRIORI, A. Effect of spinal transcutaneous direct current stimulation on somatosensory evoked potentials in humans. **Clinical Neurophysiology**, 119, 11, 2636-2640, 2008.
- COGIAMANIAN, F.; VERGARI, M.; SCHIAFFI, E.; MARCEGLIA, S.; ARDOLINO, G.; BARBIERI, S.; PRIORI, A. Transcutaneous spinal cord direct current stimulation inhibits the lower limb nociceptive flexion reflex in human beings. **PAIN®**, 152, 2, 370-375, 2011.
- COHEN, L. G.; BANDINELLI, S.; SATO, S.; KUFTA, C.; HALLETT, M. Attenuation in detection of somatosensory stimuli by transcranial magnetic stimulation. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology/Evoked Potentials Section**, 81, 5, 366-376, 1991.
- CONFORTO, A. B.; MARIE, S. K.; COHEN, L. G.; SCAFF, M. Estimulação magnética transcraniana. **Arq Neuropsiquiatr**, 61, 1, 146-152, 2003.
- CORTI, M.; PATTEN, C.; TRIGGS, W. Repetitive transcranial magnetic stimulation of motor cortex after stroke: a focused review. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, 91, 3, 254-270, 2012.

- CRONE, C.; NIELSEN, J.; PETERSEN, N.; BALLEGAARD, M.; HULTBORN, H. Disynaptic reciprocal inhibition of ankle extensors in spastic patients. **Brain**, 117, 5, 1161-1168, 1994.
- DONGÉS, S. C.; D'AMICO, J. M.; BUTLER, J. E.; TAYLOR, J. L. The effects of cervical transcutaneous spinal direct current stimulation on motor pathways supplying the upper limb in humans. **PloS one**, 12, 2, e0172333, 2017.
- ECCLES, J.; KOSTYUK, P.; SCHMIDT, R. The effect of electric polarization of the spinal cord on central afferent fibres and on their excitatory synaptic action. **The Journal of Physiology**, 162, 1, 138, 1962.
- EDGERTON, V. R.; TILLAKARATNE, N. J.; BIGBEE, A. J.; DE LEON, R. D.; ROY, R. R. Plasticity of the spinal neural circuitry after injury*. **Annu. Rev. Neurosci.**, 27, 145-167, 2004.
- EISEN, A.; FISHER, M. (1999). The F wave. Recommendations for the practice of clinical neurophysiology: guidelines of the international federation of clinical neurophysiology, Elsevier, Amsterdam: 255-257.
- ELBASIOUNY, S. M.; MUSHAHWAR, V. K. Suppressing the excitability of spinal motoneurons by extracellularly applied electrical fields: insights from computer simulations. **Journal of Applied Physiology**, 103, 5, 1824-1836, 2007.
- FIOCCHI, S.; RAVAZZANI, P.; PRIORI, A.; PARAZZINI, M. Cerebellar and Spinal Direct Current Stimulation in Children: Computational Modeling of the Induced Electric Field. **Frontiers in Human Neuroscience**, 10, 2016.
- FITZGERALD, P. B.; FOUNTAIN, S.; DASKALAKIS, Z. J. A comprehensive review of the effects of rTMS on motor cortical excitability and inhibition. **Clinical neurophysiology**, 117, 12, 2584-2596, 2006.
- GALVÃO, S. C. B.; DOS SANTOS, R. B. C.; DOS SANTOS, P. B.; CABRAL, M. E.; MONTE-SILVA, K. Efficacy of coupling repetitive transcranial magnetic stimulation and physical therapy to reduce upper-limb spasticity in patients with stroke: a randomized controlled trial. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, 95, 2, 222-229, 2014.
- GARBER, C. E.; BLISSMER, B.; DESCHENES, M. R.; FRANKLIN, B. A.; LAMONTE, M. J.; LEE, I.-M.; NIEMAN, D. C.; SWAIN, D. P. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. **Medicine and science in sports and exercise**, 43, 7, 1334-1359, 2011.
- GRECCO, L. H. Transcutaneous spinal stimulation as a therapeutic strategy for spinal cord injury: state of the art. **Journal of Neurorestoratology**, 3, 73-82, 2015.
- GREY, M. J.; KLINGE, K.; CRONE, C.; LORENTZEN, J.; BIERING-SØRENSEN, F.; RAVNBORG, M.; NIELSEN, J. B. Post-activation depression of soleus stretch reflexes in healthy and spastic humans. **Experimental brain research**, 185, 2, 189-197, 2008.
- GROPPIA, S.; OLIVIERO, A.; EISEN, A.; QUARTARONE, A.; COHEN, L.; MALL, V.; KAELIN-LANG, A.; MIMA, T.; ROSSI, S.; THICKBROOM, G. A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee. **Clinical Neurophysiology**, 123, 5, 858-882, 2012.
- HALLETT, M. Transcranial magnetic stimulation: a primer. **Neuron**, 55, 2, 187-199, 2007.
- HAREL, N. Y.; MARTINEZ, S. A.; KNEZEVIC, S.; ASSELIN, P. K.; SPUNGEN, A. M. Acute changes in soleus H-reflex facilitation and central motor conduction after

- targeted physical exercises. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, 25, 3, 438-443, 2015.
- HATTEMER, K.; KNAKE, S.; REIS, J.; ROCHON, J.; OERTEL, W. H.; ROSENOW, F.; HAMER, H. M. Excitability of the motor cortex during ovulatory and anovulatory cycles: a transcranial magnetic stimulation study. **Clinical endocrinology**, 66, 3, 387-393, 2007.
- HEIDE, A.; WINKLER, T.; HELMS, H.; NITSCHKE, M.; TRENKWALDER, C.; PAULUS, W.; BACHMANN, C. Effects of transcutaneous spinal direct current stimulation in idiopathic restless legs patients. **Brain stimulation**, 7, 5, 636-642, 2014.
- HIGGINS, J.; ALTMAN, D.; STERNE, J. Chapter 8: Assessing risk of bias in included studies. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0* [updated March 2011]. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version**, 5, 0, 2011.
- HUBLI, M.; DIETZ, V.; SCHRAFL-ALTERMATT, M.; BOLLIGER, M. Modulation of spinal neuronal excitability by spinal direct currents and locomotion after spinal cord injury. **Clinical Neurophysiology**, 124, 6, 1187-1195, 2013.
- INGHILLERI, M.; CONTE, A.; CURRA, A.; FRASCA, V.; LORENZANO, C.; BERARDELLI, A. Ovarian hormones and cortical excitability. An rTMS study in humans. **Clinical Neurophysiology**, 115, 5, 1063-1068, 2004.
- JANICAK, P. G.; DOKUCU, M. E. Transcranial magnetic stimulation for the treatment of major depression. **Neuropsychiatric disease and treatment**, 11, 1549, 2015.
- JANKOWSKA, E. Spinal interneuronal systems: identification, multifunctional character and reconfigurations in mammals. **The Journal of physiology**, 533, 1, 31-40, 2001.
- JUBEAU, M.; RUPP, T.; PERREY, S.; TEMESI, J.; WUYAM, B.; LEVY, P.; VERGES, S.; MILLET, G. Y. Changes in voluntary activation assessed by transcranial magnetic stimulation during prolonged cycling exercise. **PloS one**, 9, 2, e89157, 2014.
- KATALINIC, O. M.; HARVEY, L. A.; HERBERT, R. D.; MOSELEY, A. M.; LANNIN, N. A.; SCHURR, K. Stretch for the treatment and prevention of contractures. **Cochrane Database Syst Rev**, 9, 9, 2010.
- KATO, T.; TAKEDA, Y.; TSUJI, T.; KASAI, T. Further insights into post-exercise effects on H-reflexes and motor evoked potentials of the flexor carpi radialis muscles. **Motor control**, 7, 1, 82-99, 2003.
- KNIKOU, M. Neural control of locomotion and training-induced plasticity after spinal and cerebral lesions. **Clinical Neurophysiology**, 121, 10, 1655-1668, 2010.
- KNIKOU, M.; SMITH, A. C.; MUMMIDISSETTY, C. K. Locomotor training improves reciprocal and non-reciprocal inhibitory control of soleus motoneurons in human spinal cord injury. **Journal of neurophysiology**, jn. 00872.02014, 2015.
- KOBAYASHI, M.; PASCUAL-LEONE, A. Transcranial magnetic stimulation in neurology. **The Lancet Neurology**, 2, 3, 145-156, 2003.
- KOMIYAMA, T.; NAKAJIMA, T. Reflex modulation during rhythmic limb movements in humans. **The Journal of Physical Fitness and Sports Medicine**, 1, 1, 37-49, 2012.
- KUMRU, H.; MURILLO, N.; VIDAL SAMSO, J.; VALLS-SOLE, J.; EDWARDS, D.; PELAYO, R.; VALERO-CABRE, A.; TORMOS, J. M.; PASCUAL-LEONE, A. Reduction of spasticity with repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with spinal cord injury. **Neurorehabilitation and neural repair**, 24, 5, 435-441, 2010.
- LAMY, J.-C.; BOAKYE, M. BDNF Val66Met polymorphism alters spinal DC stimulation-induced plasticity in humans. **Journal of neurophysiology**, 110, 1, 109-116, 2013.

- LAMY, J.-C.; HO, C.; BADEL, A.; ARRIGO, R. T.; BOAKYE, M. Modulation of soleus H reflex by spinal DC stimulation in humans. **Journal of neurophysiology**, 108, 3, 906-914, 2012.
- LEFAUCHEUR, J.-P.; ANDRÉ-OBADIA, N.; ANTAL, A.; AYACHE, S. S.; BAEKEN, C.; BENNINGER, D. H.; CANTELLO, R. M.; CINCOTTA, M.; DE CARVALHO, M.; DE RIDDER, D. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). **Clinical Neurophysiology**, 125, 11, 2150-2206, 2014.
- LEFAUCHEUR, J.-P.; DROUOT, X.; VON RAISON, F.; MÉNARD-LEFAUCHEUR, I.; CESARO, P.; NGUYEN, J.-P. Improvement of motor performance and modulation of cortical excitability by repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex in Parkinson's disease. **Clinical Neurophysiology**, 115, 11, 2530-2541, 2004.
- LIEBETANZ, D.; NITSCHKE, M. A.; TERGAU, F.; PAULUS, W. Pharmacological approach to the mechanisms of transcranial DC-stimulation-induced after-effects of human motor cortex excitability. **Brain**, 125, 10, 2238-2247, 2002.
- LIM, C.-Y.; SHIN, H.-I. Noninvasive DC stimulation on neck changes MEP. **Neuroreport**, 22, 16, 819-823, 2011.
- LINDSAY, C.; KOUZOUNA, A.; SIMCOX, C.; PANDYAN, A. D. Pharmacological interventions other than botulinum toxin for spasticity after stroke. **The Cochrane Library**, 2016.
- LOO, C. K.; MCFARQUHAR, T. F.; MITCHELL, P. B. A review of the safety of repetitive transcranial magnetic stimulation as a clinical treatment for depression. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, 11, 1, 131-147, 2008.
- LUNDY-EKMAN, L. **Neuroscience: Fundamentals for Rehabilitation**. 4. St Louis, Mo: Elsevier Health Sciences, 2012.
- MACHII, K.; COHEN, D.; RAMOS-ESTEBANEZ, C.; PASCUAL-LEONE, A. Safety of rTMS to non-motor cortical areas in healthy participants and patients. **Clinical Neurophysiology**, 117, 2, 455-471, 2006.
- MAEDA, F.; KEENAN, J. P.; TORMOS, J. M.; TOPKA, H.; PASCUAL-LEONE, A. Modulation of corticospinal excitability by repetitive transcranial magnetic stimulation. **Clinical Neurophysiology**, 111, 5, 800-805, 2000.
- MARSAN, C. A.; FUORTES, M.; MAROSSERO, F. Effects of direct currents on the electrical activity of the spinal cord. **The Journal of physiology**, 113, 2-3, 316, 1951.
- MATSUDO, S.; ARAÚJO, T.; MARSUDO, V.; ANDRADE, D.; ANDRADE, E.; BRAGGION, G. Questionário internacional de atividade física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. **Rev. bras. ativ. fis. saúde**, 6, 2, 05-18, 2001.
- MAZZOCCHIO, R.; KITAGO, T.; LIUZZI, G.; WOLPAW, J. R.; COHEN, L. G. Plastic changes in the human H-reflex pathway at rest following skillful cycling training. **Clinical Neurophysiology**, 117, 8, 1682-1691, 2006.
- MCDONNELL, M. N.; BUCKLEY, J. D.; OPIE, G. M.; RIDDING, M. C.; SEMMLER, J. G. A single bout of aerobic exercise promotes motor cortical neuroplasticity. **Journal of Applied Physiology**, 114, 9, 1174-1182, 2013.
- MCNEIL, C. J.; BUTLER, J. E.; TAYLOR, J. L.; GANDEVIA, S. C. Testing the excitability of human motoneurons. **Frontiers in human neuroscience**, 7, 2013.
- MERRILL, D. R.; BIKSON, M.; JEFFERYS, J. G. Electrical stimulation of excitable tissue: design of efficacious and safe protocols. **Journal of neuroscience methods**, 141, 2, 171-198, 2005.

- MEUNIER, S.; KWON, J.; RUSSMANN, H.; RAVINDRAN, S.; MAZZOCCHIO, R.; COHEN, L. Spinal use-dependent plasticity of synaptic transmission in humans after a single cycling session. **The Journal of physiology**, 579, 2, 375-388, 2007.
- MEYER-FRIEBEM, C.; HAAG, L.; SCHMIDT-WILCKE, T.; MAGERL, W.; POGATZKI-ZAHN, E.; TEGENTHOFF, M.; ZAHN, P. Transcutaneous spinal DC stimulation reduces pain sensitivity in humans. **Neuroscience letters**, 589, 153-158, 2015.
- MIMASA, F.; MORITANI, T. 50 Acute Effects Of Aerobic Exercise On Spinal Reflex Excitability And Electroencephalogram. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, 22, 2, S9, 1990.
- MOTL, R. W.; KNOWLES, B. D.; DISHMAN, R. K. Acute bouts of active and passive leg cycling attenuate the amplitude of the soleus H-reflex in humans. **Neuroscience letters**, 347, 2, 69-72, 2003.
- MUKHERJEE, A.; CHAKRAVARTY, A. Spasticity mechanisms-for the clinician. **Front Neurol**, 1, 149.10, 3389, 2010.
- MÜLLER-DAHLHAUS, F.; ZIEMANN, U. Metaplasticity in human cortex. **The Neuroscientist**, 21, 2, 185-202, 2015.
- NAKAMURA, H.; KITAGAWA, H.; KAWAGUCHI, Y.; TSUJI, H. Intracortical facilitation and inhibition after transcranial magnetic stimulation in conscious humans. **The Journal of physiology**, 498, 3, 817-823, 1997.
- NARDONE, R.; HÖLLER, Y.; TAYLOR, A.; THOMSCHEWSKI, A.; ORIOLI, A.; FREY, V.; TRINKA, E.; BRIGO, F. Noninvasive spinal cord stimulation: technical aspects and therapeutic applications. **Neuromodulation: Technology at the Neural Interface**, 18, 7, 580-591, 2015.
- NEZIRI, A. Y.; ANDERSEN, O. K.; PETERSEN-FELIX, S.; RADANOV, B.; DICKENSON, A. H.; SCARAMOZZINO, P.; ARENDT-NIELSEN, L.; CURATOLO, M. The nociceptive withdrawal reflex: normative values of thresholds and reflex receptive fields. **European journal of pain**, 14, 2, 134-141, 2010.
- NITSCHKE, M.; PAULUS, W. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. **The Journal of physiology**, 527, 3, 633-639, 2000.
- NITSCHKE, M. A.; COHEN, L. G.; WASSERMANN, E. M.; PRIORI, A.; LANG, N.; ANTAL, A.; PAULUS, W.; HUMMEL, F.; BOGGIO, P. S.; FREGNI, F. Transcranial direct current stimulation: state of the art 2008. **Brain stimulation**, 1, 3, 206-223, 2008.
- NITSCHKE, M. A.; LIEBETANZ, D.; ANTAL, A.; LANG, N.; TERGAU, F.; PAULUS, W. Modulation of cortical excitability by weak direct current stimulation—technical, safety and functional aspects. **Supplements to Clinical neurophysiology**, 56, 255-276, 2003.
- NITSCHKE, M. A.; PAULUS, W. Transcranial direct current stimulation—update 2011. **Restorative neurology and neuroscience**, 29, 6, 463-492, 2011.
- NÓGRÁDI, A.; VRBOVÁ, G. (2006). Anatomy and physiology of the spinal cord. Transplantation of Neural Tissue into the Spinal Cord, Springer: 1-23.
- NYBERG-HANSEN, R. **Functional organization of descending supraspinal fibre systems to the spinal cord: anatomical observations and physiological correlations**. Springer, 2013.
- OLDFIELD, R. C. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. **Neuropsychologia**, 9, 1, 97-113, 1971.

- PALMIERI, R. M.; INGERSOLL, C. D.; HOFFMAN, M. A. The Hoffmann reflex: methodologic considerations and applications for use in sports medicine and athletic training research. **Journal of athletic training**, 39, 3, 268, 2004.
- PANIZZA, M.; BALBI, P.; RUSSO, G.; NILSSON, J. H-reflex recovery curve and reciprocal inhibition of H-reflex of the upper limbs in patients with spasticity secondary to stroke. **American journal of physical medicine & rehabilitation**, 74, 5, 357-363, 1995.
- PARAZZINI, M.; FIOCCHI, S.; LIORNI, I.; ROSSI, E.; COGIAMANIAN, F.; VERGARI, M.; PRIORI, A.; RAVAZZANI, P. Modeling the current density generated by transcutaneous spinal direct current stimulation (tsDCS). **Clinical Neurophysiology**, 125, 11, 2260-2270, 2014a.
- PARAZZINI, M.; ROSSI, E.; FERRUCCI, R.; LIORNI, I.; PRIORI, A.; RAVAZZANI, P. Modelling the electric field and the current density generated by cerebellar transcranial DC stimulation in humans. **Clinical Neurophysiology**, 125, 3, 577-584, 2014b.
- PASCUAL-LEONE, A.; VALLS-SOLÉ, J.; WASSERMANN, E. M.; HALLETT, M. Responses to rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. **Brain**, 117, 4, 847-858, 1994.
- PEINEMANN, A.; REIMER, B.; LÖER, C.; QUARTARONE, A.; MÜNCHAU, A.; CONRAD, B.; SIEBNER, H. R. Long-lasting increase in corticospinal excitability after 1800 pulses of subthreshold 5 Hz repetitive TMS to the primary motor cortex. **Clinical neurophysiology**, 115, 7, 1519-1526, 2004.
- PEREZ, M. A.; LUNGHOLT, B. K.; NIELSEN, J. B. Presynaptic control of group Ia afferents in relation to acquisition of a visuo-motor skill in healthy humans. **The Journal of physiology**, 568, 1, 343-354, 2005a.
- PEREZ, M. A.; LUNGHOLT, B. K.; NIELSEN, J. B. Short-term adaptations in spinal cord circuits evoked by repetitive transcranial magnetic stimulation: possible underlying mechanisms. **Experimental brain research**, 162, 2, 202-212, 2005b.
- PERROTTA, A.; BOLLA, M.; ANASTASIO, M.; SERRAO, M.; SANDRINI, G.; PIERELLI, F. Modulation of temporal summation threshold of the nociceptive withdrawal reflex by transcutaneous spinal direct current stimulation in humans. **Clinical Neurophysiology**, 127, 1, 755-761, 2016.
- PETERSEN, N. T.; PYNDT, H. S.; NIELSEN, J. B. Investigating human motor control by transcranial magnetic stimulation. **Experimental brain research**, 152, 1, 1-16, 2003.
- PHADKE, C. P.; FLYNN, S. M.; THOMPSON, F. J.; BEHRMAN, A. L.; TRIMBLE, M. H.; KUKULKA, C. G. Comparison of single bout effects of bicycle training versus locomotor training on paired reflex depression of the soleus H-reflex after motor incomplete spinal cord injury. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, 90, 7, 1218-1228, 2009.
- PIERROT-DESEILLIGNY, E.; MAZEVET, D. The monosynaptic reflex: a tool to investigate motor control in humans. Interest and limits. **Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology**, 30, 2, 67-80, 2000.
- PRIORI, A.; BERARDELLI, A.; RONA, S.; ACCORNERO, N.; MANFREDI, M. Polarization of the human motor cortex through the scalp. **Neuroreport**, 9, 10, 2257-2260, 1998.
- PRIORI, A.; CIOCCA, M.; PARAZZINI, M.; VERGARI, M.; FERRUCCI, R. Transcranial cerebellar direct current stimulation and transcutaneous spinal cord direct current stimulation as innovative tools for neuroscientists. **The Journal of physiology**, 592, 16, 3345-3369, 2014.

- RASTGOO, M.; NAGHDI, S.; NAKHOSTIN ANSARI, N.; OLYAEI, G.; JALAEI, S.; FOROGH, B.; NAJARI, H. Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on lower extremity spasticity and motor function in stroke patients. **Disability and rehabilitation**, 38, 19, 1918-1926, 2016.
- RHUDY, J. L.; FRANCE, C. R. Defining the nociceptive flexion reflex (NFR) threshold in human participants: a comparison of different scoring criteria. **Pain**, 128, 3, 244-253, 2007.
- ROCHA, S.; SILVA, E.; FOERSTER, Á.; WIESIOLEK, C.; CHAGAS, A. P.; MACHADO, G.; BALTAR, A.; MONTE-SILVA, K. The impact of transcranial direct current stimulation (tDCS) combined with modified constraint-induced movement therapy (mCIMT) on upper limb function in chronic stroke: a double-blind randomized controlled trial. **Disability and rehabilitation**, 38, 7, 653-660, 2016.
- ROEDERER, E.; GOLDBERG, N. H.; COHEN, M. J. Modification of retrograde degeneration in transected spinal axons of the lamprey by applied DC current. **Journal of Neuroscience**, 3, 1, 153-160, 1983.
- ROSSI, S.; HALLETT, M.; ROSSINI, P. M.; PASCUAL-LEONE, A.; GROUP, S. O. T. C. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. **Clinical neurophysiology**, 120, 12, 2008-2039, 2009.
- ROSSIGNOL, S.; DUBUC, R.; GOSSARD, J.-P. Dynamic sensorimotor interactions in locomotion. **Physiological reviews**, 86, 1, 89-154, 2006.
- ROSSINI, P.; BURKE, D.; CHEN, R.; COHEN, L.; DASKALAKIS, Z.; DI IORIO, R.; DI LAZZARO, V.; FERRERI, F.; FITZGERALD, P.; GEORGE, M. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an IFCN Committee. **Clinical Neurophysiology**, 126, 6, 1071-1107, 2015.
- SADOWSKI, B. Plasticity of the Cortical Motor System. **Journal of Human Kinetics**, 20, 5-22, 2008.
- SANDRINI, G.; SERRAO, M.; ROSSI, P.; ROMANIELLO, A.; CRUCCU, G.; WILLER, J. C. The lower limb flexion reflex in humans. **Progress in neurobiology**, 77, 6, 353-395, 2005.
- SCHINDLER-IVENS, S.; SHIELDS, R. K. Low frequency depression of H-reflexes in humans with acute and chronic spinal-cord injury. **Experimental brain research**, 133, 2, 233-241, 2000.
- SCHOMBURG, E. D. Spinal functions in sensorimotor control of movements. **Neurosurgical review**, 13, 3, 179-185, 1990.
- SIEBNER, H. R.; MENTSCHER, C.; AUER, C.; LEHNER, C.; CONRAD, B. Repetitive transcranial magnetic stimulation causes a short-term increase in the duration of the cortical silent period in patients with Parkinson's disease. **Neuroscience letters**, 284, 3, 147-150, 2000.
- SINGH, A. M.; DUNCAN, R. E.; NEVA, J. L.; STAINES, W. R. Aerobic exercise modulates intracortical inhibition and facilitation in a nonexercised upper limb muscle. **BMC sports science, medicine and rehabilitation**, 6, 1, 1, 2014.
- SINKJÆR, T.; ANDERSEN, J. B.; NIELSEN, J. F.; NIELSEN, J. Impaired stretch reflex and joint torque modulation during spastic gait in multiple sclerosis patients. **Journal of neurology**, 243, 8, 566-574, 1996.

- SOMMER, M.; ALFARO, A.; RUMMEL, M.; SPECK, S.; LANG, N.; TINGS, T.; PAULUS, W. Half sine, monophasic and biphasic transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. **Clinical Neurophysiology**, 117, 4, 838-844, 2006.
- STEGEMAN, D.; HERMENS, H. Standards for surface electromyography: The European project Surface EMG for non-invasive assessment of muscles (SENIAM). **Enschede: Roessingh Research and Development**, 108-112, 2007.
- SURUAGY, I.; BALTAR, A.; GOMES, L. P.; BERENGUER, M.; DORNELAS, A.; MONTE-SILVA, K. Intensity-dependent effects of cycling exercise on corticospinal excitability in healthy humans: a pilot study. **Motriz: Revista de Educação Física**, 23, 2, 2017.
- TAUBE, W.; LEUKEL, C.; NIELSEN, J. B.; LUNDBYE-JENSEN, J. Repetitive activation of the corticospinal pathway by means of rTMS may reduce the efficiency of corticomotoneuronal synapses. **Cerebral Cortex**, 25, 6, 1629-1637, 2015.
- TERREAUX, L.; GROSS, R.; LEOEUF, F.; DESAL, H.; HAMEL, O.; NGUYEN, J. P.; PÉROT, C.; BUFFENOIR, K. Benefits of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) for spastic subjects: clinical, functional, and biomechanical parameters for lower limb and walking in five hemiparetic patients. **The Scientific World Journal**, 2014, 2014.
- TOUGE, T.; GERSCHLAGER, W.; BROWN, P.; ROTHWELL, J. C. Are the after-effects of low-frequency rTMS on motor cortex excitability due to changes in the efficacy of cortical synapses? **Clinical Neurophysiology**, 112, 11, 2138-2145, 2001.
- TROMPETTO, C.; MARINELLI, L.; MORI, L.; CANNEVA, S.; COLOMBANO, F.; TRAVERSO, E.; CURRÀ, A.; ABBRUZZESE, G. The effect of age on post-activation depression of the upper limb H-reflex. **European journal of applied physiology**, 114, 2, 359-364, 2014.
- TRUINI, A.; VERGARI, M.; BIASIOTTA, A.; CESA, S.; GABRIELE, M.; STEFANO, G.; CAMBIERI, C.; CRUCCU, G.; INGHILLERI, M.; PRIORI, A. Transcutaneous spinal direct current stimulation inhibits nociceptive spinal pathway conduction and increases pain tolerance in humans. **European Journal of Pain**, 15, 10, 1023-1027, 2011.
- VALERO-CABRÉ, A.; OLIVERI, M.; GANGITANO, M.; PASCUAL-LEONE, A. Modulation of spinal cord excitability by subthreshold repetitive transcranial magnetic stimulation of the primary motor cortex in humans. **Neuroreport**, 12, 17, 3845-3848, 2001.
- VOGEL, R. (2015). "UNDERSTANDING ANODAL AND CATHODAL STIMULATION." Retrieved 2017/05/10, 2017, from <http://neurologiclabs.com/understanding-anodal-and-cathodal-stimulation/>.
- WASSERMANN, E. M.; ZIMMERMANN, T. Transcranial magnetic brain stimulation: therapeutic promises and scientific gaps. **Pharmacology & therapeutics**, 133, 1, 98-107, 2012.
- WINKLER, T.; HERING, P.; STRAUBE, A. Spinal DC stimulation in humans modulates post-activation depression of the H-reflex depending on current polarity. **Clinical Neurophysiology**, 121, 6, 957-961, 2010.
- WISETH, T. (2016). "Human anatomy and physiology Laboratory Manual." Retrieved 2017/05/31, 2017, from <http://www.biologyonline.us/Online%20A&P/AP%202/Northland/AP2lab/lab2/14.htm>.
- YANG, S.; XU, G.; WANG, L.; CHEN, Y.; WU, H.; LI, Y.; YANG, Q. (2006). 3D realistic head model simulation based on transcranial magnetic stimulation. Engineering in

Medicine and Biology Society, 2006. EMBS'06. 28th Annual International Conference of the IEEE, IEEE.

APÊNDICE A – ARTIGO ORIGINAL 1 – REVISÃO SISTEMÁTICA

Does trans-spinal direct current stimulation modulate the Hoffmann reflexes of healthy individuals? A systematic review and meta-analysis

Plínio Luna Albuquerque^{1,2,3}, Thyciane Mendonça¹, Mayara Campêlo^{1,2}, Lívia Shirahige^{1,2}, Kátia Monte-Silva^{1,2*}.

¹Applied Neuroscience Laboratory, Department of Physical Therapy, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

² Postgraduate Program in Neuropsychiatry and Behavioral Sciences, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

³ Department of Physical Therapy, Centro Universitário Tabosa de Almeida ASCES/UNITA, Caruaru, Pernambuco, Brazil.

* **Corresponding author:** Katia Monte-Silva; Applied Neuroscience Laboratory, Department of Physical Therapy, Universidade Federal de Pernambuco. PHONE: +55 81-2126 7579 / FAX: +55 81-2126 8491. Email: monte.silvakk@gmail.com.

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors.

The researchers were supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil.

ABSTRACT

STUDY DESIGN: Systematic review and meta-analysis.

OBJECTIVES: To summarize the available evidence regarding the effects of trans-spinal direct current stimulation (tsDCS) on spinal monosynaptic circuit excitability in healthy individuals.

SETTING: Applied Neuroscience Laboratory, Brazil.

METHODS: Two independent assessors searched PubMed, CINAHL, PsycINFO, Web of Science and LILACS. Controlled studies that reported monosynaptic reflex measures were included. Methodological quality was assessed using the Cochrane tool for assessing the risk of bias, with extracted information about the spinal neurophysiological and stimulation protocols.

RESULTS: Seven crossover studies were included in the risk of bias assessment, and six studies in the meta-analyses. The meta-analysis results did not show any significant differences between anodal (pooled SMD = -0.09, 95% CI = -0.72 to 0.55, $p = 0.79$, $I^2 = 67\%$) or cathodal tsDCS (pooled SMD = 0.28, 95% CI = -0.07 to 0.63, $p = 0.11$, $I^2 = 0\%$) and sham tsDCS for Hoffmann reflex modulation.

CONCLUSION: Our systematic review showed that there were no effects of tsDCS in modulating spinal monosynaptic reflexes. However, these findings come from studies with low to moderate methodological quality, and further research is needed to examine the efficacy of this intervention.

Keywords: Spinal Cord Stimulation; Healthy volunteers; Spinal Cord; Neurophysiology.

Introduction

Spinal reflex activity plays an important role in the proper functioning of mechanisms related to tonus control and postural adjustments during movement execution¹. Previous studies including healthy and injured individuals have tested therapeutic strategies, such as drug and unspecific motor interventions, intended to increase spinal inhibitory control. However, systematic reviews have shown that motor^{2, 3} and pharmacological^{4, 5} approaches have limited effect, and result in an increased risk of adverse events.

In this context, trans-spinal direct current stimulation (tsDCS) has emerged as a potential new non-invasive tool for modulating spinal cord excitability and corticospinal transmission.⁶⁻⁸ It consists of transcutaneous application of direct current above the spinal cord over a prolonged time, to modulate physiological functions such as spinal reflexes and ascending and descending pathway transmission.⁹

Previous animal models suggested that tsDCS exerts its effects in a polarity-dependent way. Aguillar and colleagues⁷ demonstrated that anodal tsDCS reduced the local field potential responses to somatosensory stimuli in the gracile nucleus, while cathodal tsDCS did the opposite.¹⁰ Cathodal tsDCS increased Hoffmann reflexes (H-reflexes) and spinal cord responses to cortically elicited actions.⁷

In humans, direct current effects on spinal segmental circuitry have mainly been assessed for Ia motoneuronal connections, by recording the Hoffmann reflex.⁹ Unlike the results reported in animal studies, the effects of tsDCS on spinal monosynaptic reflexes in healthy individuals are quite controversial. Some studies found no induced changes in an H-reflex after cathodal or anodal tsDCS;¹¹⁻¹³ however, Lamy and colleagues⁸ reported a leftward shift in the soleus H-reflex stimulus-response curve after anodal tsDCS (indicating increased excitability).

The H-reflex is the most extensively studied response in the literature on human neurophysiology, and it plays a special role in studies of the neural control of movement.¹⁴ For this reason, understanding the effects of tsDCS on spinal monosynaptic activity in healthy models is important for the decision-making process during the elaboration of research protocols in neurorehabilitation, and for providing useful tools for clinical practice.

To our knowledge, no systematic review has comprehensively evaluated the findings of available studies that assessed spinal electrophysiological measures after tsDCS in healthy individuals. Therefore, this systematic review aimed to summarize the available evidence relating to the effects of tsDCS on the excitability of spinal monosynaptic circuits in healthy individuals. Accordingly, we examined the acute after-effects of anodal and cathodal tsDCS on parameters of the Hoffmann reflex, comparing them to sham tsDCS.

Methods

Literature search and selection criteria

Potentially eligible articles were searched for using the following databases: PubMed (via MEDLINE), CINAHL (via EBSCO), PsycINFO, Web of Science, and LILACS (via BIREME). Based on the Medical Subject Headings (MeSH), the terms used for this search were “Spinal Cord”; “Healthy Volunteers”; “Spinal Cord Stimulation”; “Humans”; and “Reflex”. We used the following terms taken from the Health Sciences Descriptors (DeCS): “Healthy Volunteers” and “Reflex”. The study also searched for the following free-text terms: “trans-spinal direct current stimulation” and “direct current stimulation”. Additionally, we reviewed the references of included papers (see Appendix 1 in the Supporting Information).

To improve the degree of specificity, we used two filters for PubMed: “Publication dates” (2008-2017) and “Species” (Humans). In all databases, “Publication dates” was used as a filter, because tsDCS was first proposed in humans in 2008. All descriptors and terms were used with the Boolean Operator “AND” in a wide range of combinations to find relevant studies. Language restriction was not applied, and all searches were performed between February 2017 and October 2017. The review protocol was registered in the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO, Protocol CRD42017053810).

The research process was performed in accordance with PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-analysis). We included randomized clinical trials or crossover studies that compared spinal reflex activity through the Hoffmann reflex or through post-activation depression, after anodal or cathodal tsDCS and sham tsDCS in healthy individuals. Studies that did not use a sham comparison, and those that applied tsDCS with other neuromodulatory techniques, were excluded (see Appendix 2 in the Supporting Information).

Two independent reviewers (T. M. and P. L.) analyzed the titles and abstracts of studies following the initial search. Studies considered relevant for this review that did not violate any exclusion criteria were retrieved for evaluation of the full texts. If the authors were unable to agree, a third reviewer (M. C.) was consulted.

Outcome measures

This review considered as outcomes measurements performed after stimulation (in anodal, cathodal, and sham sessions). The primary analysis focused on spinal cord excitability changes, measured by components of monosynaptic reflexes such as the Hoffmann reflex (e. g., the H-reflex amplitude and the H max/M-wave ratio).

Quality assessment

The methodological quality of the studies selected for the systematic review was evaluated by two independent reviewers (T. M. and P. L.) according to chapter 8 of the Cochrane Handbook, to assess the risk of bias.¹⁵ This tool was used to analyze randomization, allocation concealment, description of results, outcome measures, assessor and participant blinding, losses, early interruption of trials, and other sources of bias. These items were categorized as “adequate”, “inadequate”, “unrealized”, or “not described”. Any differences in opinion were discussed with a third reviewer (M. C.). Finally, the studies were classified as having a high, unclear, or low risk of bias.

Data extraction

In agreement with current literature, the reviewers considered the following factors as relevant for study characterization: (i) study design; (ii) population; (iii) parameters of tsDCS; (iv) outcome measures; (v) mean \pm standard deviation (SD) of electrophysiological measures for the experimental and control sessions immediately after tsDCS.

Data selection and extraction were independently conducted at the same time by two qualified reviewers (T. M. and P. L.), according to a standardized protocol. When the article did not state or did not clearly present all relevant data needed for analysis, the reviewers contacted the corresponding author. Those who did not reply to the e-mail were excluded from the meta-analysis.

Analysis of results

For meta-analysis, we considered the standardized mean difference (SMD) of electrophysiological measures for the experimental sessions (anodal or cathodal tsDCS), compared to a sham tsDCS session immediately after the intervention. When studies presented results in terms of the standard error of the mean (SEM), we converted them into standard deviations (SD) using the follow equation: $SD = SEM * (\sqrt{n})$.

The Review Manager Software (RevMan 5.3) was used to calculate the effect size of the difference between the spinal reflex amplitude for the sham and active tsDCS. Cohen's *d* value was examined. For values of 0.2 to 0.3, the effect size was classified as "small"; around 0.5 as "medium"; and above 0.8 as "large".¹⁶

A heterogeneity test was performed, and the meta-analysis was considered homogeneous when the *p* value was greater than 0.05 and the heterogeneity index (I^2) was less than 25%. We applied a random effects model for cases in which the heterogeneity was greater than 25%, and a fixed effects model for heterogeneity indexes less than or equal to 25%.

We performed two different meta-analyses, for anodal and cathodal stimulation. Sensitivity analysis was applied to avoid the impact of confounding factors.

Results

Identification and selection of articles

Of the 538 articles initially identified in the database search, 61 were excluded as duplicates. Therefore 477 studies were selected for careful evaluation, and 456 of these were excluded after analyzing the abstracts. Twenty-one full publications were evaluated for eligibility, of which 13 were excluded for not meeting the eligibility criteria or for not providing data for meta-analysis. Seven crossover studies from various countries were carried into the risk-of-bias assessment phase (Fig 1). One study¹⁷ was not included in the meta-analysis because it did not present the mean and standard deviation of the neurophysiological measures. Six studies were finally included in the meta-analysis phase, five of them in the anodal meta-analysis,^{8, 11-13, 18} and five in the cathodal meta-analysis.^{8, 11, 13, 18, 19}

Characteristics of included studies

Six of the seven included crossover studies were published between 2010 and 2015.^{8, 11-13, 17, 18} Altogether, 90 healthy individuals (age 25 to 41 years) received anodal, cathodal, or sham tsDCS. The characteristics of the individual studies are described in Table 1.

Risk of bias assessment

The results of the random sequence generation analysis were alarming, in that one study demonstrated a high risk of bias,¹⁸ while the rest were unclear or did not use methods to generate a random sequence.^{8, 11-13, 17-19} With regard to allocation concealment, 57.14% of the included studies did not perform this methodological step,^{8, 11, 18, 19} while 42.86% of them failed to clearly report the method used.^{12, 13, 17} Figure 2 summarizes these aspects for each of the seven included studies.

All studies failed to report on detection and execution bias. Specifically, five studies (71.43%) did not mention blinding of the outcome assessor^{11, 13, 17-19} and two studies (29%) did not mention blinding of participants^{11, 13} (29%). In contrast, all studies presented a low risk of bias for incomplete outcome data, selective reporting, and other bias.

tsDCS protocols and reported results

Most studies placed the active electrode on the spinous process of T10 and the reference electrode on the right shoulder. The most commonly used current intensity and stimulation duration were 2.5 mA and 15 minutes, respectively. Regarding current density and total charge, the maximum values observed were 0.071 mA/cm^{28, 12, 17} and 100.8 mC/cm,¹⁸ respectively. The parameters used for tsDCS, and the main results reported by the studies, are presented in Table 2.

Meta-analyses results

We selected the H max/M wave ratio results to perform the meta-analyses, because it was a measure common to the included studies. For studies in which the H-reflex and the M-wave amplitudes were reported separately, the H/M ratio amplitude was calculated. Additional data on other neurophysiological measures reported in the studies are described in Table 2.

In total, we performed four meta-analyses, two overall meta-analyses including all studies, and two sensitivity analyses excluding one study.¹⁸ Sensitivity analysis was conducted to assess the robustness of the findings, since Hubli and colleagues (2013) employed a different technique to assess the Hoffmann reflex amplitude.²⁰

In the overall meta-analyses, we failed to find a significant difference between sham tsDCS and anodal (pooled SMD = -0.09, 95% CI = -0.72 to 0.55, $p = 0.79$, $I^2 = 67\%$) or cathodal tsDCS (pooled SMD = 0.28, 95% CI = -0.07 to 0.63, $p = 0.11$, $I^2 = 0\%$; Fig 3).

The sensitivity analysis also did not find significant differences between sham tsDCS and anodal (pooled SMD = -0.24, 95% CI = -0.16 to 0.63, $p = 0.24$, $I^2 = 0\%$) or cathodal (pooled SMD = 0.12, 95% CI = -0.26 to 0.51, $p = 0.53$, $I^2 = 0\%$) tsDCS. We found low heterogeneity indexes for all meta-analyses, except for the overall meta-analysis that assessed spinal excitability after anodal tsDCS ($P = 0.02$; $I^2 = 67\%$).

Discussion

To the best of our knowledge, this is the first systematic review and meta-analysis that assessed the effects of tsDCS on monosynaptic spinal reflex excitability in healthy individuals. Our results demonstrated no difference between the values of H max/ M wave amplitude obtained from sham tsDCS, anodal tsDCS, or cathodal tsDCS.

The physiological mechanisms affecting the ability of tsDCS to modulate spinal cord excitability are not completely understood. However, some studies suggested that tsDCS could act by direct activation of spinal circuits, or by modulation of ascending pathways to the supra-segmental nervous system.²¹ At the segmental level, tsDCS may activate inhibitory interneuron circuits¹² and thereby regulate the spontaneous activity of motor neurons.⁶ Also, a probable activation of supraspinal loops, transmitted by brainstem and thalamocortical systems, has been mentioned as responsible for afferent and efferent (corticospinal tract) inhibition.^{12, 22}

Our meta-analyses showed a small and nonsignificant effect size for most of the studies. Only the results of cathodal tsDCS applied by Hubli and colleagues showed a high effect size favorable to the tsDCS group. Consequently, we could not confirm any changes in monosynaptic reflex excitability, which suggests that tsDCS either primarily affects neural circuits distant from the application site, or affects aspects of interneuron activity not measured by the Hoffmann reflex.

These findings differ from previous studies that assessed the effects of tsDCS in animal models. Overall, those studies found an increase in H-reflex size after cathodal tsDCS, while anodal tsDCS had the opposite effect.^{7, 23} In addition, a recent study²⁴ on anesthetized animals demonstrated that cathodal polarization facilitated synaptic actions evoked by peripherally stimulated afferents, including intra- and extracellularly recorded excitatory postsynaptic potentials in motoneurons. Conversely, Kaczmarek and colleagues (2017) found that tsDCS modulated two spinal modulatory systems related to reflex activity in a polarity-independent way, that is, cathodal and anodal tsDCS both facilitated them²⁵. These studies attributed the

effects of tsDCS to changes in synaptic transmission and neurotransmitter release at the spinal level.

The difference between the results presented in our meta-analysis and the results reported in animal studies can be partially attributed to variations in the electric field orientation relative to the spinal cord and the use of invasive electrodes. An invasive electrode arrangement generates a higher current density than that estimated for the humans who underwent tsDCS.²⁶ In addition, the use of anesthetic drugs can influence spinal excitability, and decreases synaptic transmission at excitatory interneuron terminals in some animals.⁹

Aside from the H reflex/M wave ratio values included in our meta-analyses, four studies presented changes over time in other spinal excitability measures.^{8, 12, 13, 18} Two of these studies reported an increase in spinal excitability after anodal tsDCS through other measures not included in the meta-analyses, such as post-activation depression¹³ and the slope of the H reflex recruitment curve.⁸ Additionally, a reduction in spinal reflex amplitude was seen after cathodal tsDCS.¹⁸

Perhaps the H reflex/M wave ratio is not sensitive enough to detect spinal excitability changes induced by tsDCS, as this measure reflects a maximal percentage of depolarized motoneurons in response to Ia afferent activation. According to Lamy and colleagues¹³, this measure also could be affected by external factors such as cutaneous stimulation and the duration of the experiment.^{8, 27} In this way, other measures capable of assessing the efficacy of the Ia-fiber-motoneuron synapse, such as post-activation depression, seem to be more appropriate for identifying effects induced by tsDCS.¹³

All studies that reported changes in measures other than the Hoffmann reflex examined only before-and-after differences, and did not perform comparisons with sham sessions. Since statistical differences do not prove biological or clinical significance, comparisons within groups could not show a real effect of a treatment. This could explain the absence of an effect in our meta-analyses, even if four of the seven studies included had reported a spinal cord modulation after tsDCS.²⁸ In addition, even if it is possible that the tsDCS-induced effects were too small to differ significantly from sham stimulation, this does not mean that tsDCS has no effect on the monosynaptic reflex circuits.

Two studies contributed strongly to the meta-analyses results.^{8, 11} The first study¹¹ applied direct current (intensity 2.0 mA) above the posterior neck in twelve volunteers. The

second study⁸ applied direct current (intensity 2.5 mA) approximately above the eleventh thoracic vertebra, in 17 volunteers. These studies used the H reflex to assess spinal cord excitability before and after tsDCS. In neither study was sample size calculations reported. Small sample sizes employed in other studies may be responsible for failure to detect an important existing effect.²⁹ In addition, we found that one study¹⁸ involved different numbers of individuals who received active stimulation and sham stimulation. However, the authors avoided multiple comparisons between the active and sham tsDCS groups, such as Friedman's test. Instead, they conducted post hoc analyses with the Wilcoxon signed rank test, thus avoiding the introduction of bias.

Our meta-analyses found low heterogeneity, except for anodal tsDCS (all studies). This showed moderate heterogeneity, due to one study that assessed H-reflex amplitude using a different method (H-reflex of the abductor hallucis longus in response to electrical stimuli consisting of an eightfold biphasic pulse with a single stimulus duration of 2 ms and a frequency of 200 Hz). The other studies examined H-reflex values of the soleus muscle (expressed by the H reflex/ M wave ratio) evoked by single electrical stimulation with stimulus duration 1 ms, delivered to the tibial nerve. For this reason, we performed a meta-analysis examining the standard deviation of the mean, and a sensitivity analysis.

Regarding the assessment of risk of bias, the included studies demonstrated problems with randomization sequence generation, allocation concealment, and blinding. Proper allocation concealment requires strict implementation of a random allocation sequence without foreknowledge of treatment assignments. Inadequate or unclear allocation concealment yields up to 40% larger estimates of effect intervention and contributes to an increase in heterogeneity of the results.³⁰ In our review, three studies^{12, 13, 17} were classified as “unclear risk of bias” and four as “high risk of bias”.^{8, 11, 18, 19} Combined with a correct randomization process, adequate allocation sequence concealment prevents the introduction of selection bias. Neglecting these aspects implies low methodological quality and is a serious issue.

Regarding the blinding issue, five studies^{11, 13, 17-19} did not use blind assessors during the outcome assessment, and two studies^{11, 13} did not apply blinding methods for participants and personnel. Blinding problems in randomized trials induce ascertainment bias and could affect the assessment of psychological or physical responses. Moreover, blinding strategies minimize the likelihood of differential treatment or assessment of outcomes.³¹

Even if subjective outcomes are most at risk of ascertainment bias, objective outcomes, including neurophysiological measures, often require some degree of subjectivity and thus are at risk of bias as well.³¹ We consider that Hoffmann reflex measures are evaluator dependent, because factors such as electrode and stimulator positioning could modify the electromyographic results. The blinding of participants is also important to ensure the same assessment conditions, since spinal reflexes can be increased when individuals are highly aroused, anxious, or in a fearful state.^{32, 33} Prior knowledge about the type of stimulation (real or sham) could increase the level of anxiety of individuals and induce changes in electromyographic responses unrelated to tsDCS. Inadequate allocation concealment can also affect the compliance and retention of trial participants.³⁴

It is also relevant to consider that the included studies adopted very similar protocols for tsDCS. In general, the studies adopted a current intensity from 2.0 to 2.5 mA and a stimulation duration ranging from 15 to 20 minutes. These parameters are considered safe and far below to the threshold for tissue damage; in addition, no serious adverse effects were reported.^{26, 35}

This systematic review represents an important guide for future studies in the neurophysiology field that aim to evaluate the induced effects of tsDCS on spinal monosynaptic circuits. Our meta-analysis results found no differences between the effects produced by sham tsDCS and anodal or cathodal tsDCS, in relation to the ability to modulate spinal excitability of healthy individuals, as assessed by the H-reflex (H-reflex/M wave ratio). However, these results involve studies with moderate or low methodological quality.

The changes induced by tsDCS may not have a significant influence on the excitability of alpha-motoneurons, but may affect the efficacy of Ia fiber-motoneuron synapse, or they could regulate the activity of the inhibitory interneuron network. Neither of these effects are fully evaluated by the Hoffmann reflex, and therefore could be missed; thus, additional measures such as post-activation depression should be included in future studies to complement the results from Hoffmann reflex analysis.

Our results demonstrate that tsDCS causes no change in a physiological parameter in healthy individuals. However, further studies should examine the effect of tsDCS on polysynaptic circuits and neurotransmitter release at the spinal cord level. These studies should employ a larger sample size and greater methodological rigor, especially concerning allocation concealment and randomization.

Acknowledgements

The researchers were supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil.

Conflicts of Interest

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors.

Supplementary Information is available from the Spinal Cord website

References

1. Jankowska E. Spinal interneuronal systems: identification, multifunctional character and reconfigurations in mammals. *The Journal of physiology*. 2001;533(1):31-40.
2. Corbetta D, Sirtori V, Castellini G, Moja L, Gatti R. Constraint-induced movement therapy for upper extremities in people with stroke. *The Cochrane Library*. 2015.
3. Kinnear BZ, Lannin NA, Cusick A, Harvey LA, Rawicki B. Rehabilitation therapies after botulinum toxin-A injection to manage limb spasticity: a systematic review. *Physical therapy*. 2014;94(11):1569.
4. Lindsay C, Kouzouna A, Simcox C, Pandyan AD. Pharmacological interventions other than botulinum toxin for spasticity after stroke. *The Cochrane Library*. 2016.
5. McIntyre A, Lee T, Janzen S, Mays R, Mehta S, Teasell R. Systematic review of the effectiveness of pharmacological interventions in the treatment of spasticity of the hemiparetic lower extremity more than six months post stroke. *Topics in stroke rehabilitation*. 2012;19(6):479-90.
6. Ahmed Z. Trans-spinal direct current stimulation modulates motor cortex-induced muscle contraction in mice. *Journal of Applied Physiology*. 2011;110(5):1414-24.
7. Ahmed Z, Wieraszko A. Trans-spinal direct current enhances corticospinal output and stimulation-evoked release of glutamate analog, D-2, 3-3H-aspartic acid. *Journal of Applied Physiology*. 2012;112(9):1576-92.
8. Lamy J-C, Ho C, Badel A, Arrigo RT, Boakye M. Modulation of soleus H reflex by spinal DC stimulation in humans. *Journal of neurophysiology*. 2012;108(3):906-14.
9. Priori A, Ciocca M, Parazzini M, Vergari M, Ferrucci R. Transcranial cerebellar direct current stimulation and transcutaneous spinal cord direct current stimulation as innovative tools for neuroscientists. *The Journal of physiology*. 2014;592(16):3345-69.
10. Aguilar J, Pulecchi F, Dilella R, Oliviero A, Priori A, Foffani G. Spinal direct current stimulation modulates the activity of gracile nucleus and primary somatosensory cortex in anaesthetized rats. *The Journal of physiology*. 2011;589(20):4981-96.
11. Lim C-Y, Shin H-I. Noninvasive DC stimulation on neck changes MEP. *Neuroreport*. 2011;22(16):819-23.
12. Cogiamanian F, Vergari M, Schiaffi E, Marceglia S, Ardolino G, Barbieri S, et al. Transcutaneous spinal cord direct current stimulation inhibits the lower limb nociceptive flexion reflex in human beings. *PAIN®*. 2011;152(2):370-5.
13. Winkler T, Hering P, Straube A. Spinal DC stimulation in humans modulates post-activation depression of the H-reflex depending on current polarity. *Clinical Neurophysiology*. 2010;121(6):957-61.

14. Misiaszek JE. The H-reflex as a tool in neurophysiology: Its limitations and uses in understanding nervous system function. *Muscle & nerve*. 2003;28(2):144-60.
15. Higgins J, Altman D, Sterne J. Chapter 8: Assessing risk of bias in included studies. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0* [updated March 2011]. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version*. 2011;5(0).
16. Cohen J. Statistical power analysis. *Current directions in psychological science*. 1992;1(3):98-101.
17. Bocci T, Vannini B, Torzini A, Mazzatenta A, Vergari M, Cogiamanian F, et al. Cathodal transcutaneous spinal direct current stimulation (tsDCS) improves motor unit recruitment in healthy subjects. *Neuroscience letters*. 2014;578:75-9.
18. Hubli M, Dietz V, Schrafl-Altermatt M, Bolliger M. Modulation of spinal neuronal excitability by spinal direct currents and locomotion after spinal cord injury. *Clinical Neurophysiology*. 2013;124(6):1187-95.
19. Dongés SC, D'Amico JM, Butler JE, Taylor JL. The effects of cervical transcutaneous spinal direct current stimulation on motor pathways supplying the upper limb in humans. *PloS one*. 2017;12(2):e0172333.
20. Hubli M, Dietz V, Bolliger M. Spinal reflex activity: a marker for neuronal functionality after spinal cord injury. *Neurorehabilitation and neural repair*. 2012;26(2):188-96.
21. Grecco LH. Transcutaneous spinal stimulation as a therapeutic strategy for spinal cord injury: state of the art. *Journal of Neurorestoratology*. 2015;3:73-82.
22. Cogiamanian F, Ardolino G, Vergari M, Ferrucci R, Ciocca M, Scelzo E, et al. Transcutaneous spinal direct current stimulation. The frontiers of clinical research on transcranial direct current stimulation (tDCS) in Neuropsychiatry. 2012:206.
23. Ahmed Z. Effects of cathodal trans-spinal direct current stimulation on mouse spinal network and complex multijoint movements. *Journal of Neuroscience*. 2013;33(37):14949-57.
24. Bolzoni F, Jankowska E. Presynaptic and postsynaptic effects of local cathodal DC polarization within the spinal cord in anaesthetized animal preparations. *The Journal of physiology*. 2015;593(4):947-66.
25. Kaczmarek D, Ristikankare J, Jankowska E. Does trans-spinal and local DC polarization affect presynaptic inhibition and post-activation depression? *The Journal of physiology*. 2017;595(5):1743-61.
26. Parazzini M, Fiocchi S, Liorni I, Rossi E, Cogiamanian F, Vergari M, et al. Modeling the current density generated by transcutaneous spinal direct current stimulation (tsDCS). *Clinical Neurophysiology*. 2014;125(11):2260-70.
27. Lagerquist O, Collins DF. Influence of stimulus pulse width on M-waves, H-reflexes, and torque during tetanic low-intensity neuromuscular stimulation. *Muscle & nerve*. 2010;42(6):886-93.
28. Skelly AC. Probability, proof, and clinical significance. *Evidence-based spine-care journal*. 2011;2(04):9-11.
29. Noordzij M, Tripepi G, Dekker FW, Zoccali C, Tanck MW, Jager KJ. Sample size calculations: basic principles and common pitfalls. *Nephrology dialysis transplantation*. 2010:gfp732.
30. Schulz KF, Grimes DA. Allocation concealment in randomised trials: defending against deciphering. *The Lancet*. 2002;359(9306):614-8.
31. Karanicolas PJ, Farrokhyar F, Bhandari M. Blinding: Who, what, when, why, how? *Canadian journal of surgery*. 2010;53(5):345.
32. Rosenbaum DA. Chapter 3 - Physiological Foundations. *Human Motor Control (Second Edition)*. San Diego: Academic Press; 2010. p. 43-91.

33. Sibley KM, Carpenter MG, Perry JC, Frank JS. Effects of postural anxiety on the soleus H-reflex. *Human movement science*. 2007;26(1):103-12.
34. Schulz KF, Grimes DA. Blinding in randomised trials: hiding who got what. *The Lancet*. 2002;359(9307):696-700.
35. Bikson M, Grossman P, Thomas C, Zannou AL, Jiang J, Adnan T, et al. Safety of Transcranial Direct Current Stimulation: Evidence Based Update 2016. *Brain Stimulation*. 2016.

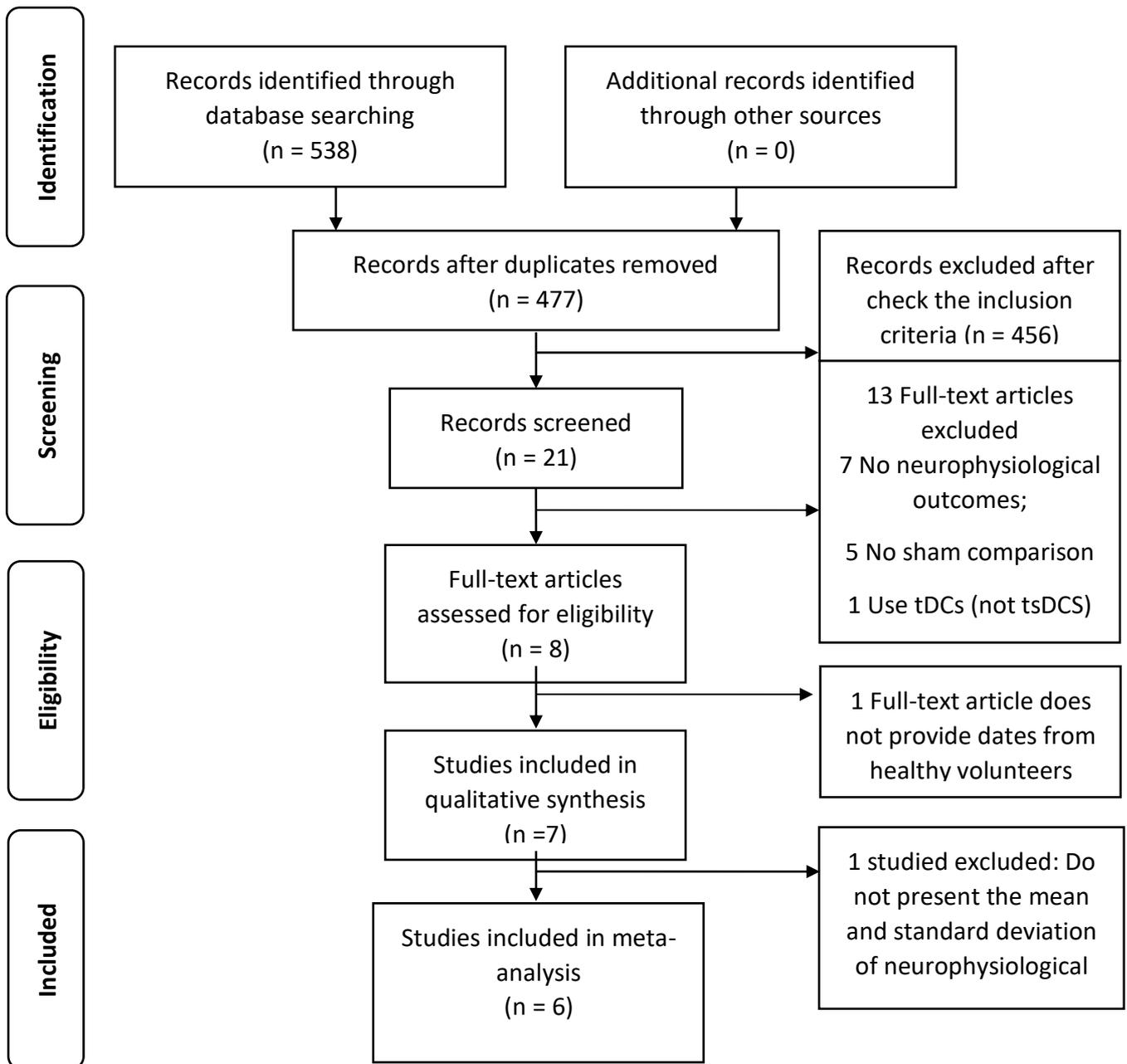


Fig 1. PRISMA flow diagram.

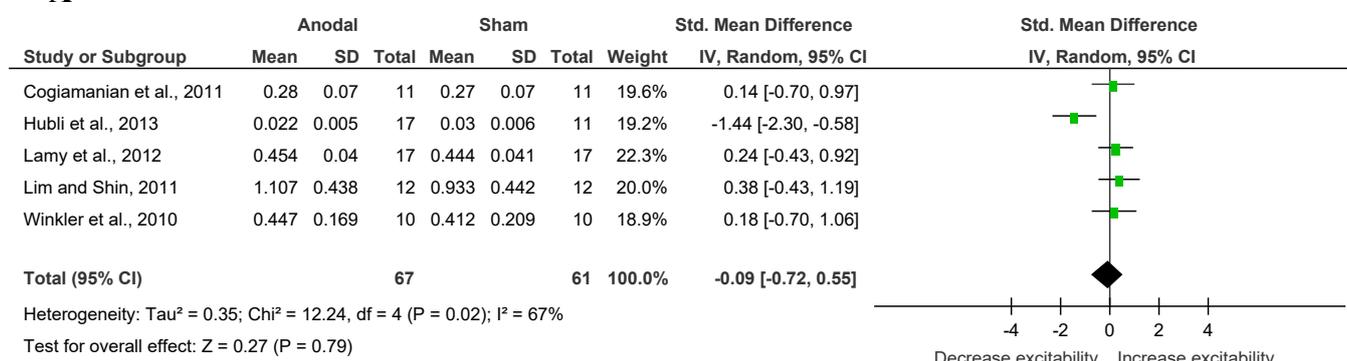
PRISMA: Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses; tDCS: transcranial direct current stimulation; tsDCS: trans-spinal direct current stimulation.

	Random sequence generation (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Blinding of participants and personnel (performance bias)	Blinding of outcome assessment (detection bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selective reporting (reporting bias)	Other bias
Bocci 2014	?	?	+	-	+	+	+
Cogiarnanian 2011	?	?	+	+	+	+	+
Dongés et al., 2017	?	-	+	-	+	+	+
Hubli 2013	-	-	+	-	+	+	+
Lamy 2012	?	-	+	+	+	+	+
Lim & Shin 2011	?	-	-	-	-	+	?
Winkler 2010	?	?	-	-	+	+	+

Fig 2. Risk of bias summary: review authors' judgments about each risk-of-bias item for each included study.

(+) The study presented this information: “low risk of bias”; (-) the study did not present this information: “high risk of bias”; (?) plausible bias that raises some doubt about the study's information: “unclear risk of bias”.

A



B

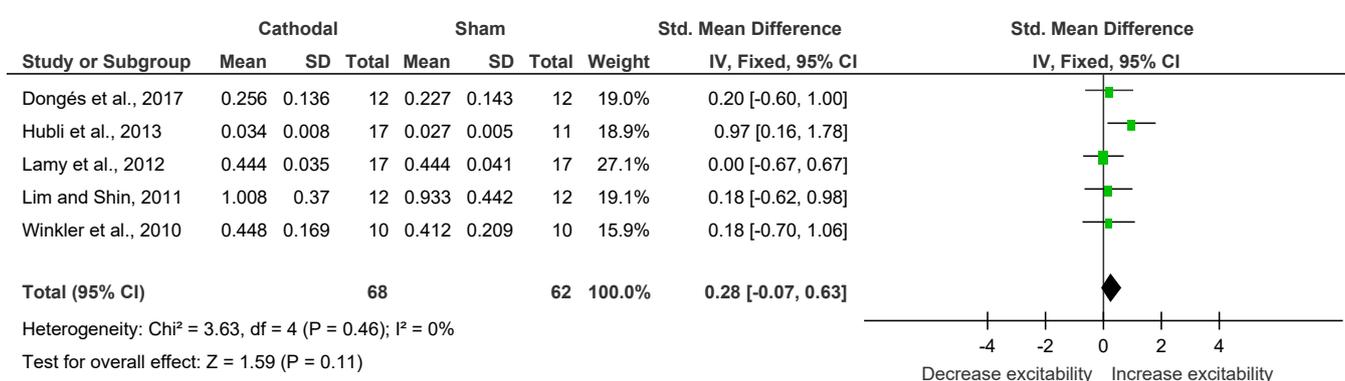


Fig 3. Forest plot of standard mean differences of spinal cord excitability measures after trans-spinal direct current stimulation, compared to sham stimulation. A: Comparison between the values obtained after anodal and sham trans-spinal direct current stimulation. B: Comparison between the values obtained after cathodal and sham trans-spinal direct current stimulation. Mean: represents values after active and sham stimulation; SD: standard deviation; Total: indicates the number of subjects in each session. Forest plot: small squares indicate the effect size of each study; CI: 95% confidence interval; I²: heterogeneity index; Chi²: chi-square, Cochran Q test. The large black diamond represents the pooled effect size of the combined trials.

Table 1. Characteristics of the included studies.

Author/year	Country	Study design	Subjects' age (mean \pm SD)	Sham tsDCS N	Cathodal tsDCS N	Anodal tsDCS N	Dropouts (reasons)	Adverse effects
Bocci et al, 2014	Italy	Crossover	25.8 \pm 5.9	12	12	12	None	Not reported
Cogiamanian et al, 2011	Italy	Crossover	28 \pm 6.55	11	X	11	None	No adverse effects
Hubli et al, 2013	Switzerland	Crossover	29.9 \pm 8.1	11	17	17	Not all conditions were applied to every subject due time and technical reasons	Slight itching and tingling under cathode electrode
Lamy et al, 2012	France	Crossover	30.6 \pm 1.8	17	17	17	None	Initial tingling and itching sensation (first 90 seconds)
Lim & Shin, 2011	Republic of Korea	Crossover	28.4 \pm 3.9	12	12	12	None	No adverse effects
Winkler et al, 2010	Germany	Crossover	27.8 \pm 2.3	10	10	10	None	Slight itching and tingling
Dongés et al, 2017	Australia	Crossover	28 \pm 11	12	12	X	None	Not reported

tsDCS: trans-spinal direct current stimulation. X: This study did not use this session of tsDCS.

Table 2. Parameters of stimulation, outcomes and main results of included studies

Study	Electrode size (cm ²)	Electrode placing	Intensity (mA)	Total charge of current (mC/cm ²)	Duration of stimulation (minutes)	Duration of sham (seconds)	Outcomes (assessment tool)	Results
Bocci et al, 2014 [#]	35	Spinous process of 9th and 11th vertebrae and right shoulder	2.5	85.7	20	X	Motor unity number (MUNE)	Cathodal tsDCS induced an increase in motor unity number recruitment.
Cogiarnian et al, 2011	35	Spinous process of 10th and vertebra and right shoulder	2.5	63.9	15	10	H-reflex/ M wave ratio	The H reflex/ M wave ratio remained unchanged.
Dongés et al., 2017	30	Spinous process of C7 and cervical mental angle	3.0	85	20	30	H-reflex/ M wave ratio Recruitment curve Homosynaptic depression	H-reflex recruitment curve parameters and homosynaptic depression remained unchanged when compared to sham session.
Hubli et al, 2013	45	Spinous process of 11th and 12th vertebrae and left shoulder	2.5	100.8	20	4	Spinal reflex behavior/H-reflex	Significant decrease of reflex amplitude after sham and cathodal tsDCS (after -before effect)
Lamy et al, 2012	35	Spinous process of 11th vertebra and right shoulder	2.5	64	15	90	H-reflex/ M wave ratio	Anodal tsDCS induced a leftward shift of the H reflex recruitment curve up to 15 minutes. The H reflex/ M wave ratio remained unchanged.
Lim & Shin, 2011	25	Spinous process of C7 and cervical mental angle	2.0	96	20	10	H-reflex/ M wave ratio	No significant changes in H reflex parameters after anodal or cathodal tsDCS.
Winkler et al, 2010	40	Spinous process of 11th vertebra and infraclavicular region	2.5	56	15	10	H-reflex/ M wave ratio Homosynaptic depression	H reflex/M wave ratio remained unchanged. Anodal tsDCS induced a decreased in homosynaptic depression (after - before effect).

X: not reported data. [#] This article did not enter into metanalysis because did not provide appropriate data (mean \pm standard deviation) for neurophysiological outcome.

Supporting information. Appendix 1- Combination of descriptors and free terms for each database used for the identification of the studies.

Medline	#1 “healthy volunteers” AND “spinal cord stimulation” #2 “spinal cord stimulation” AND reflex #3 “healthy volunteers” AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #4 reflex AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #5 “direct current stimulation” AND “spinal cord” #6 humans AND “transcutaneous spinal direct current stimulation”
LILACS	#1 “healthy volunteers” AND “spinal cord stimulation” #2 “spinal cord stimulation” AND reflex #3 “healthy volunteers” AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #4 reflex AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #5 “direct current stimulation” AND “spinal cord” #6 humans AND “transcutaneous spinal direct current stimulation”
Web of Science	#1 “healthy volunteers” AND “spinal cord stimulation” #2 “spinal cord stimulation” AND reflex #3 “healthy volunteers” AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #4 reflex AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #5 “direct current stimulation” AND “spinal cord” #6 humans AND “transcutaneous spinal direct current stimulation”
CINAHL	#1 “healthy volunteers” AND “spinal cord stimulation” #2 “spinal cord stimulation” AND reflex #3 “direct current stimulation” AND spinal cord #4 “healthy volunteers” AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” #5 “direct current stimulation” AND “healthy volunteers ” #6 humans AND “transcutaneous spinal direct current stimulation”
PsycINFO	#1 “healthy volunteers” AND “spinal cord stimulation” #2 “spinal cord stimulation” AND reflex #3 “healthy volunteers” AND “transcranial spinal direct current stimulation” #4 reflex AND “transcutaneous spinal direct current stimulation” # 5 direct current stimulation" AND "spinal cord" #6 humans AND “transcutaneous spinal direct current stimulation”

APÊNDICE B – ARTIGO ORIGINAL 2: ESTUDO CROSSOVER

Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation and trans-spinal direct current stimulation associated with treadmill exercise in spinal cord and cortical excitability of healthy subjects: a triple-blind, randomized and sham-controlled study

Plínio Luna Albuquerque^{1,2,3}, Mayara Campêlo^{1,3}; Thyciane Mendonça¹, Luís Augusto Mendes Fontes¹, Rodrigo de Mattos Brito¹, Katia Monte-Silva^{1,3*}

1 - Applied Neuroscience Laboratory, Department of Physical Therapy, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

2 – Department of Physical Therapy, Centro Universitário Tabosa de Almeida, Caruaru, Pernambuco, Brazil.

3 - Postgraduate Program in Neuropsychiatry and Behavioral Sciences, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

*Corresponding author

E-mail: monte.silvakk@gmail.com (KM)

ABSTRACT

Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) over motor cortex and trans-spinal direct current stimulation (tsDCS) modulate corticospinal circuits in healthy and injured subjects. However, their associated effects with physical exercise is still not defined. This study aimed to investigate the effect of three different settings of rTMS and tsDCS combined with treadmill exercise on spinal cord and cortical excitability of healthy subjects. We performed a triple blind, randomized, sham-controlled crossover study with 12 healthy volunteers who underwent single sessions of rTMS (1Hz, 20Hz and Sham) and tsDCS (anodal, cathodal and Sham) associated with 20 minutes of treadmill walking. Cortical excitability was assessed by motor evoked potential (MEP) and spinal cord excitability by the Hoffmann reflex (Hr), nociceptive flexion reflex (NFR) and homosynaptic depression (HD). All measures were assessed before, immediately, 30 and 60 minutes after the experimental procedures. Our results demonstrated that anodal tsDCS/treadmill exercise reduced MEP's amplitude and NFR's area compared to sham condition, conversely, cathodal tsDCS/treadmill exercise increased NFR's area. High-frequency rTMS increased MEP's amplitude and NFR's area compared to sham condition. Anodal tsDCS/treadmill exercise and 20Hz rTMS/treadmill exercise reduced Hr amplitude up to 30 minutes after stimulation offset and no changes were observed in HD measures. We demonstrated that tsDCS and rTMS combined with treadmill exercise modulated cortical and spinal cord excitability through different mechanisms. tsDCS modulated spinal reflexes in a polarity-dependent way acting at local spinal circuits while rTMS probably promoted changes in the presynaptic inhibition of spinal motoneurons. In addition, the association of two neuromodulatory techniques induced long-lasting changes.

Introduction

Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) and trans-spinal direct current stimulation (tsDCS) are safe and effective non-invasive tools involving the application of magnetic and electric fields to induce changes in the spinal cord and cortical excitability^{1,2}.

In humans, rTMS post-stimulation effects are widespread to cortical and subcortical areas³ and depends on frequency, site of stimulation and coil position⁴. Usually, high frequency rTMS (≥ 5 Hz) increase corticospinal excitability while low frequency rTMS (< 1 Hz) has the opposite effect¹. At spinal cord level, rTMS seems to induce changes in presynaptic inhibition in Ia afferents terminals; this way, few studies using high-frequency rTMS over the motor cortex showed a decrease of the Hoffmann reflex^{5,6} while low-frequency rTMS increased it⁷.

tsDCS is another non-invasive tool capable of modulating central nervous system excitability through delivering a direct current (DC) over the spinal cord^{2,8}. Some preliminary studies suggest that anodal tsDCS depresses ascending spinal pathways conduction^{8,9} and induces a long-lasting decrease in post-activation depression of soleus H-reflex¹⁰. In animals, mice model, cathodal tsDCS increase corticospinal output through changes in neurotransmitters release at segmental level¹¹ and by the modulation of the corticospinal pathways conduction^{12,13}.

As well as non-invasive stimulation tools, physical exercise modulates the cortical and spinal cord excitability¹⁴. The mechanisms related to the cortical modulation by physical exercise results from the decrease of intra-cortical inhibition and the increase of intracortical facilitation networks on primary motor cortex¹⁵. Alternatively, physical exercise acts at the spinal level inducing changes in the synaptic efficacy between Ia afferents and motoneuron connections¹⁶. In either site, cortex or spinal cord, the effects of physical exercises depend on intensity, duration and complexity of training¹⁵⁻²⁰.

Due to its ability to induce changes in the excitability of neural circuits and to promote neuronal plasticity, rTMS and tsDCS have been used in isolation as non-pharmacological method to reduce spinal cord reflexes^{5, 6, 21, 22} and to maximize motor recovery in patients with neurological disorders^{1, 23-26}. However, recent studies have pointed to the benefits of the combination of different non-invasive stimulation techniques as an adjunct intervention to augment the response of the motor system to the behavioral training^{27, 28}. In this way, the association between two neuromodulatory techniques could reinforce the effects of the first intervention or activate neuroprotective mechanisms to maintain the homeostatic balance.

Therefore, the induction of LTP or LTD in the central nervous system can vary as a function of the integrated postsynaptic activity. This way, the association of two neuromodulatory techniques could reinforce the effects of the first intervention or activate neuroprotective mechanisms to stabilize synaptic weights in neuronal networks in order to maintain synaptic plasticity²⁹. This latter includes the reversion of the “facilitatory preconditioning” as well as “inhibitory preconditioning”²⁹. For this reason, to understand how the non-invasive neuromodulatory tools act when combined with behavioral approaches in healthy models is critical in providing basis for future therapeutic application in patients with neurological disorders.

The purpose of the present study is to clarify the effects of the association of two different non-invasive tools with the treadmill exercise on the spinal cord and motor cortex excitability in a triple blind, randomized and sham-controlled crossover study with healthy subjects.

Materials and Methods

A triple blind, randomized, sham-controlled study was performed in the Applied Neuroscience Laboratory of Physical Therapy Department at Universidade Federal de

Pernambuco. The study was approved by the local Ethics Committee conforms to the standards of the Declaration of Helsinki and all participants gave their written informed consent before being included in the study. The study protocol was registered in ClinicalTrials.gov (name: NIS_CNSexcitability, number: NCT02659826). An initial enrolment of some individuals to perform a pilot study was made before the recruitment of the individuals who were included in the study. Therefore, all individuals included in our study were recruited after the study registration. The authors confirm that all ongoing and related trials for this intervention are registered.

Participants

As Inclusion criteria, we considered (i) age ranging between 18 to 40 years old; (ii) healthy volunteers (self-report); (iii) right handed, confirmed by Edinburgh Handedness Inventory (31) and (iv) sedentary or irregularly active according to brief version of International Physical Activity Questionnaire – IPAQ³⁰. Only women controlling menstrual cycle through contraceptive medicine were included. In contrast, exclusion criteria included: (i) metallic implant in the skull, face, spine or pacemaker; (ii) pregnancy; (iii) history of epileptic seizure; (iv) history of neurological, serious systemic or psychiatric disorders; (v) current use of anti-depressive or other medication that could change the cortical excitability.

The sample size was defined using the statistics calculator from the Massachusetts General Hospital Biostatistics Center (http://hedwig.mgh.harvard.edu/sample_size/js/js_crossover_quant.html). The minimum detectable difference ($MDD = 1,96 * EP * \sqrt{2}$) and the standard deviation of the mean difference were calculated from previous studies, that assessed the Hoffman reflex amplitude after and before tsDCS or rTMS session in healthy subjects^{2, 10}. Considering a statistical power of 80% and a two-sided significance level of 5%, a number between eleven to thirteen volunteers would be necessary to complete the study.

Experimental procedure

A counterbalanced and randomized sessions sequence was generated by computer (www.randomization.com). Each volunteer underwent six experimental sessions consisting of a baseline assessment of cortical and spinal excitability followed by a randomly assigned NIS session, tsDCS (anodal, cathodal or sham) or TMS (20 Hz, 1Hz or Sham), tested in a double-blind condition. To guarantee the blinded condition, stimulator programming and electrode positioning were made by a different physician not involved in enrollment, neurophysiological acquisitions nor data analysis²². The allocation process was conducted by an external researcher and kept in sealed envelopes. All assessors, volunteers and statistician were blinded regarding the kind of non-invasive stimulation.

All individuals were oriented to maintain the same feed and sleeping habits during the study. All interventions were performed at the same shift of the day; in addition, motivation and fatigue were evaluated before the start of each session to guarantee the same basal condition. After the NIS session all subjects underwent to 20 minutes of treadmill training with moderate intensity following immediate (T0), 30 minutes (T30) and 60 min (T60) after stimulation re-assessment. At least an one week washout between sessions was adopted to avoid any influence by the previous stimulation.

Trans-spinal direct current stimulation (tsDCS)

A direct current was delivered by an electrical stimulator (Neuroconn®/Germany) connected to a pair of electrodes (7 cm x 5 cm) of saline-soaked synthetic sponge placed between eleventh and twelfth thoracic vertebrae and on right shoulder. The tsDCS polarity referred to the electrode placed over the spinal cord. Direct current was delivered for 1,200s, fade in and fade off 10s with an intensity of 2,5 mA and a current density of 0,071 mA/cm². Sham stimulation followed the same montage of anodal stimulation but after 30 seconds, the stimulator was turned off. The sham montage provided the same initial sensation of active

stimulation but does not induce neurophysiological changes³¹. After tsDCS all subjects were interviewed about possible adverse effects³².

Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation (rTMS)

rTMS was delivered by eight coil attached to a magnetic stimulator (Rapid Magstim®). All volunteers were seated in a comfortable chair with headrest and armrests. Before stimulation, a rest motor threshold (RMT) of the first dorsal interosseous (FID) muscle was determined on the left motor cortex. The RMT was defined as the lowest single-pulse TMS intensity required to produce a motor evoked potential amplitude larger than 50mV (confirmed by surface electromyography)³³. For RMT assessment we used the *Motor Threshold Assessment Tool* - MTAT 2.0 (<http://www.clinicalresearcher.org/software.htm>). For high frequency repetitive stimulation, a total of 1800 pulses were delivered by 45 trains with two seconds of duration at a frequency of 20Hz (40 pulses/train) and 28 seconds of interval. For 1Hz rTMS, a total of 1500 pulses were delivered. For both active rTMS conditions, a repetitive stimulation was applied over the FID hotspot with an intensity of 90% of RMT. For sham rTMS, a coil disconnected from the stimulator unit was held over the scalp while a second coil, connected with the stimulator, was positioned behind the patient's head, without touching the scalp. Thus, no current was induced in the brain, but the subjects were exposed to acoustic stimulation from the second coil³³.

Treadmill exercise protocol

A treadmill walk (Gait training- Biodex) with moderate intensity (64% to 76% of maximum heart rate) and 20 minutes duration was performed after each NIS session. The maximum heart rate (HR_{max}) was calculated using the following formula: $HR_{max} = 220 - Age^{30}$. In order to guarantee similar exercise intensity for all volunteers, the subject perceived exertion and heart rate were assessed by Borg scale and monitored by cardiac polar (Polar RS800, Polar

Electro- Kempele, Finland) every three minutes. Moreover, treadmill inclination and speed were controlled to avoid fatigue or light training.

Hoffmann Reflex and Homosynaptic depression

All subjects were positioned comfortably in a quiet room on lying position. The lower limbs were placed with knee flexed 30° and ankle at 90°. The Hoffmann reflex (Hr) was elicited and recorded by electrical stimulator (Neuromep-8, Russia) and electric stimuli were delivered to the tibial nerve at popliteal fossa⁹. Surface electromyography was recorded by self-adhesive Ag–AgCl electrodes (1.0 cm diameter) with 2 cm interelectrode distance. Two electrodes were positioned on the medial portion of the right soleus, 5 cm and 7 cm distally to the medial head from gastrocnemius muscle¹⁰. A ground electrode was attached over gastrocnemius midline 10 cm distally to recorded electrodes.

To obtain the maximal Hr (Hr_{max}) and maximal M-wave (M_{max}), rectangular pulses with 1.0 ms were delivered every 12 seconds and the current intensity increased in steps of 1 mA. Recordings were collected at a bandwidth of 5–10000 Hz and a sample rate of 20000 Hz and care was taken to keep impedance below 3 kΩ. The Hr_{max}/M_{max} ratio was considered during statistical analysis to minimize physiological variations.

Homosynaptic depression was assessed by H-reflex recovery curve³⁴⁻³⁶. We plotted the Hr recovery curve by delivering pairs of stimuli following the same setting described above with equal Hr_(max) intensity and duration. Stimuli were delivered at interstimulus interval (ISI) of 40, 50, 70, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800 and 900 ms, and 1, 2, 3, 4 and 5 seconds at frequency no faster than 12 seconds. The mean peak-to-peak amplitude of the unconditioned and conditioned H-reflex was calculated. Conditioned mean was expressed as a percentage of the unconditioned mean for every delay (Hr₂/Hr₁ x 100)³⁵.

Nociceptive flexion reflex (NFR)

The painful component of NFR was assessed in a quiet room (temperature 23 ± 2 °C) with volunteers positioned on the left side to ensure complete muscle relaxation and the right leg rest adjusted to maintain knee flexion at 60° degrees from horizontal.

To elicit NFR, five consecutive electrocutaneous stimuli were delivered over the sural nerve through Neuro-Mep bar electrodes (a bipolar stimulation electrode with cathode placed on superior extremity) applied behind the right lateral malleolus. Each stimulation trial consisted of five rectangular pulses with 1ms duration and intensity equivalent to 120% of NFR threshold. To avoid the stimulus predictability the stimulation was delivered randomly (interval range 8 to 12 s) without previous warning³⁷. To record NFR activity, a differential electromyographic pair of surface electrodes (Ag/AgCl, inter-electrode distance of 2 cm) was positioned on the belly of ipsilateral brevis head of the biceps femoris muscle of the right leg and a reference (common ground electrode) on lateral epicondyle of femur³⁸. The analysis time considered the post-stimulation interval of 90 ms to 150 ms. The EMG signals were amplified (up to 20,000 times) and the filtered, bandpass 5 Hz to 2 KHz (Neuro-MEP, Neurosoft®, Russia).

For the NFR threshold assessment, the current intensity was increased from 6 mA in steps of 1 mA until achieving a reflex with an amplitude exceeding 20 μ V in the 90 to 150 ms after stimulation interval³⁷. A perceived report of pain after each stimulation was recorded using Visual Analog Scale (VAS) that scores 0 (no pain) to 10 (maximum tolerable). In the event that a participant provided a rating of 10, the threshold assessment was discontinued³⁸.

Motor-evoked potential (MEP)

The corticospinal excitability was assessed by MEP elicited through transcranial magnetic stimulation. For this, the subjects were seated in a comfortable chair with head and arms resting. A figure-of-eight coil (7cm diameter) connected to a magnetic stimulator

(Neurosoft Ltd., Russia, peak magnetic field = 2.2 tesla) delivered the TMS single pulses. The coil was kept in a constant position centered over the motor cortex on left hemisphere at an angle of 45° from the midline. The optimal position (hotspot) was defined as the site where stimulation resulted the largest evoked potentials. MEP were recorded at rest by two non-polarizable surface electrodes (AgCl), one placed over the belly of the first dorsal interosseous (FDI) muscle, and the other on the skin overlying of the first metacarpophalangeal joint of the first finger of the right hand.

Stimulation was set as 130% of RMT (as previously described). To compare MEP modifications across the time we fixed the same stimulation intensity (baseline). Twenty MEPs were collected for each time point and all outputs were amplified and filtered (bandwidth 5Hz to 20 KHz, Neuro-MEP-Micro, Neurosoft Company, Russia).

Statistical analysis

A descriptive analysis was performed to present clinical characteristics and one-way ANOVA (with post hoc LSD) was employed in order to verify any difference between conditions before each session.

For the analysis of spinal and cortical excitability measurements, the values obtained after stimulation were normalized intra-individually and are given as baseline ratios. For homosynaptic depression, we selected the follow interestimulus intervals (150, 200, 250 and 300) as a potentiation peak of recovery from the H-reflex recovery curve³⁴. All data met criteria of normality (Shapiro-Wilk test).

For Hr max/ M max amplitude, NFR area, MEP amplitude and HD a repeated measure ANOVA (4x6) was calculated using within subject factors: time course (baseline, immediately, 30 minutes and 60 minutes after stimulation) and stimulation (anodal tsDCS, cathodal tsDCS, sham tsDCS, 20 Hz rTMS, 1 Hz and sham rTMS). The sphericity was checked by Mauchly's

test and corrected by Greenhouse-Geisser test, if necessary. When appropriate, post hoc analyses were performed with paired Student t-test.

The magnitude of effect was given by Cohen's *d* effect-size test (comparison with sham stimulation). We considered as $d \leq 0.2$ as a small effect-size, $d = 0.5$ to 0.7 as a moderate effect-size and $d \geq 0.8$ as a large effect-size. All data was analyzed using the Statistical Package for Social Sciences (version 20.0, SPSS Inc, Chicago IL, USA). A *P* value of < 0.05 was considered significant for all statistical analysis.

Results

Twelve healthy subjects (6 male, mean age 27.75 ± 2.77 years) completed the study (Table 1). Three subjects were considered "sedentary" according to IPAQ (25%) and nine as "irregular active" (75%). In general, the experimental procedures were well tolerated by all subjects and only a few subjects reported an occasionally slight tingling or itching sensation beneath the electrodes. No difference was distinguishable by volunteers or assessors between the "real" or "sham" stimulation nor between polarities. All participants underwent all stimulations and no subject dropped out of the study. The flow diagram of screening and selection process of individuals enrolled in the study are shown in Fig 1.

At baseline, one-way ANOVA revealed no difference between all six sessions for H_{\max} / M_{\max} amplitude ($F = 0.33$, $p = 0.89$), NFR area ($F = 0.35$, $p = 0.88$) and MEP amplitude ($F = 0.21$, $p = 0.88$), see Table 1.

H max / M max

ANOVA for repeated measures disclosed a significant effect for factor TIME ($F = 4.81$, $p = 0.007$) for H_{\max} / M_{\max} amplitude. The post-hoc analysis performed with paired t-test revealed a significant decrease in H_{\max} / M_{\max} amplitude immediately (mean difference = 0.152 ; CI 0.06 to 0.25 , $p = 0.005$) and 30 minutes (mean difference = 0.12 ; CI 0.04 to 0.21 ; p

= 0.013) after anodal tsDCS combined with treadmill exercise (Fig 2A) and immediately (mean difference = 0.12; CI 0.04 to 0.26; $p = 0.017$) and 30 minutes (mean difference = 0.11; CI 0.10 to 0.21; $p = 0.034$) after 20Hz rTMS plus treadmill exercise compared to baseline values (Fig 2B).

Nociceptive flexion reflex

The ANOVA for repeated measures showed a significant effect for interaction STIMULATION x TIME ($F = 2.744$, $p = 0.009$) for NFR area. The post-hoc analysis performed with paired t-test revealed a significant decrease in NFR area max immediately after anodal tsDCS/treadmill (mean difference = - 0.38; CI -0.62 to - 0.14; $p = 0.004$, $d = 0.97$) compared to sham tsDCS/treadmill.

Paired t-test also disclosed a significant increase of NFR area immediately (mean difference = - 0.90; CI -1.27 to - 0.53; $p < 0.001$), 30 minutes (mean difference = - 0.76; CI - 1.09 to - 0.42; $p = 0.001$) and 60 minutes (mean difference = - 0.57; CI -0.99 to - 0.15; $p = 0.014$) after 20Hz rTMS/treadmill compared to baseline values and in comparison to sham rTMS/treadmill at T0 (mean difference = 0.88; CI 0.45 to 1.31; $p = 0.014$, $p = 0.001$, $d = 2.67$), T30 (mean difference = 0.82; CI 0.29 to 1.35; $p = 0.007$, $d = 2.07$) and T60 (mean difference = 0.66; CI 0.17 to 1.16; $p = 0.014$, $d = 1.46$), see Table 2.

Homosynaptic depression

No statistical difference was found between mean values in any condition for the analysis over the time and in comparison to sham stimulation for interstimulus interval of 150 ms, 200 ms, 250 ms, and 300 ms (Table 2).

Motor evoked potential

The ANOVA for repeated measures disclosed a significant effect for factor STIMULATION ($F = 4.82$, $p = 0.01$) and TIME ($F = 7.18$, $p = 0.01$) for MEP amplitude. The post-hoc analysis performed with paired t-test revealed a significant decrease in MEP amplitude

immediately after anodal tsDCS/treadmill (mean difference = - 0.30; CI -0.57 to - 0.04; $p = 0.028$, $d = 1.07$) compared to sham tsDCS/treadmill (Fig 3A).

Additionally, a significant increase of MEP amplitude was seen immediately (mean difference = - 0.32; CI -0.55 to 0.08; $p = 0.014$), 30 minutes (mean difference = - 0.54; CI -0.81 to - 0.27; $p = 0.001$) and 60 minutes (mean difference = - 0.45; CI = -0.73 to - 0.17; $p = 0.005$) after 20Hz rTMS/treadmill compared to baseline values and in comparison to sham rTMS/treadmill at T0 (mean difference = 0.39; CI 0.17 to 0.76; $p = 0.042$, $d = 1.39$), T30 (mean difference = 0.48; CI 0.08 to 0.87; $p = 0.024$, $d = 0.98$) and T60 (mean difference = 0.42; CI 0.02 to 0.82; $p = 0.044$, $d = 0.87$) (Figure 3B).

Discussion

As far as we know, this is the first triple blind study that investigated the effects of different parameters of rTMS and tsDCS in combination with physical exercise on the spinal cord and corticospinal excitability. The main result of this study is that anodal tsDCS plus treadmill induced a reduction of MEP's amplitude and NFR area compared to sham stimulation/treadmill and reduced Hr max/ M max ratio across the time up to 30 after stimulation offset. Conversely, cathodal tsDCS plus treadmill increased NFR area compared to sham group. In addition, 20 Hz rTMS plus treadmill strongly increased MEP's amplitude and NFR area at least 60' offset stimulation in comparison to sham stimulation/treadmill and decreased Hr max/ M max ratio across the time up to 30 after stimulation offset. No changes were found for homosynaptic depression values after any sessions for all interestimulus intervals tested.

Our results demonstrate that tsDCS and rTMS modulate monosynaptic and polysynaptic spinal reflexes through a different mechanism. tsDCS seems to concentrate its effects at a segmental level in dependence on polarity. On the other hand, the modulation of spinal reflexes by rTMS appears to be dependent of pre-synaptic inhibition/ facilitation of spinal motoneurons

by descending outputs. The following topics discuss some possible mechanisms involved in the modulation induced by the combination of noninvasive stimulation techniques and physical exercise in spinal cord reflexes behavior and corticospinal excitability.

Reduction of Hr max/M max after anodal tsDCS and rTMS combined with treadmill

Few previous studies using direct current stimulation in isolation over spinal cord reported no changes on Hoffmann reflex parameters after anodal tsDCS^{9, 10, 39}. Even if the complete understanding about how tsDCS influences the spinal cord circuits remains open to question, some mechanisms have been suggested. The more widely accepted concept is that tsDCS does not have a significant influence on the excitability of the alpha-motoneuron but on the efficacy of the Ia fibre-motoneurone synapse¹⁰.

Our study, unlike the above mentioned, observed a significant decrease across the time in H max/M max amplitude ration after anodal tsDCS and 20Hz rTMS followed by 20 minutes of moderate physical exercise session. The combination of these two neuromodulatory techniques forms the core aspect that differentiates our results from those that applied tsDCS or rTMS isolated.

Previous studies with moderate intensity exercises found a reduction of Hoffmann reflex up to 30 minutes after training^{40, 41}. This change coming from inhibitory mechanisms within the central nervous system and from the activation of the afferent mechanoreceptors of the exercising leg⁴¹. Peripheral influences promoted by physical exercise include the effect of type III e IV afferent mechanoreceptors on pre-synaptic inhibition of the Ia afferent terminals, alpha motoneurons inhibition through Ib inhibitory neurons and reciprocal inhibition caused by activation of Ia afferent fiber from antagonist muscles like anterior tibialis^{41, 42}. Therefore, the addition of anodal tsDCS and 20 Hz rTMS increased the effects of exercise and extended it up to 30 minutes after intervention. This finding could be result of induced plastic changes at the spinal level.

The mechanisms underlying plastic changes on spinal circuits induced by tsDCS are not fully understood, but some inferences based on transcranial DC stimulation suggest that changes on resting membrane potential acts similarly to long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) mechanisms^{10, 31}. Spinal DC stimulation also mediates changes on the glutamatergic neurotransmission at spinal level and influences motor cortical outputs in a polarity-dependent fashion⁴³.

Regarding the effects of the association of 20 Hz rTMS and treadmill exercise, our results corroborate with previous studies that assessed the spinal cord excitability after high frequency rTMS in isolation^{5, 6}. Perez and colleagues (2005) demonstrated an increase of cortical motor evoked potential and a depression of soleus H-reflex after a 5 Hz rTMS single session. The authors suggested that the inhibition of H-reflex could be explained by an increase of presynaptic inhibition of soleus Ia afferent without changes on disynaptic reciprocal inhibition from antagonist muscles⁶. Therefore, high-frequency rTMS modulates specific spinal circuits' transmission through changes on cortical drive even when the intensity of stimulation is below the threshold for elicitation of MEP⁶.

No changes in homosynaptic depression

In our study, no changes on homosynaptic depression were demonstrated after rTMS or tsDCS sessions. This result could be explained by the low complexity of the treadmill walking. Changes on synaptic efficacy have only been reported in studies that investigated the effects of complex training over spinal excitability^{16, 19}.

Mazzocchio and colleagues (2006) verified that constant cycling speed despite changing pedal resistance was associated with a persistent downregulation of the soleus H reflex, which was absent after cycling at the same speed without change in pedal. Similar results demonstrated an increase of homosynaptic depression immediately and up to three days following skilled cycle training¹⁶ or visuo-motor task training¹⁹ while no changes on non-skilled

training were reported. These studies indicate that only skilled training is able to increase a presynaptic inhibition of Ia afferents through changes of the probability of transmitter release without modify somatosensory ascending pathways^{16, 19}. Thus, the spinal cord is able to express use-dependent plasticity at segmental level according to motor task complexity. As previously stated, treadmill walking is considered a non-skilled training due a constant speed and the absence of challenge during intervention.

Increase of NFR after 20Hz TMS and Cathodal tsDCS and decrease after anodal tsDCS stimulation

A depression of the ascending nociceptive conduction in spinal pathways after anodal tsDCS has been previously reported^{9, 22, 44}. In these studies, tsDCS was applied in isolation and its inhibitory effects on ascending transmission remained at least 30 minutes after stimulation offset. Our study presented similar results after the session with anodal tsDCS combined with treadmill exercise. We also found an increase of the NFR area after a session containing cathodal tsDCS following treadmill exercise.

Cogiamanian and colleagues (2011) verified a lasting after-effects induced by anodal tsDCS on the central nociceptive transmission without changes on mono-oligosynaptic segmental reflex pathways. The authors suggested that tsDCS reduced NFR area by acting at the spinal level through changes in a complex interneuronal network that includes multireceptive and wide-dynamic-range (WDR) neurons⁹. WDR integrate a descending motor drive and multisensorial feedback in order to project their outputs to spinal motoneurons⁴⁵. Therefore, anodal tsDCS in isolation or combined with exercise may act by reducing the gain on spinal nociceptive transmission through changes in interneuron spinal networks while cathodal tsDCS exerts the opposite effect.

Other mechanisms has been related with NFR inhibition by tsDCS, such as changes on neurotransmitters release (especially GABA and glutamate) at spinal cord level⁴⁶ and the activation of supraspinal loops with brain stem and thalamocortical system that provides

descending inhibition commands to the spinal motoneurons⁴⁷. In addition, changes in NMDA (N-metil D-Aspartato) receptors efficiency at segmental and intersegmental level by tsDCS could block the “gain” of nociceptive transmission²².

Regarding the effects of rTMS in the nociceptive flexion reflex, previous studies reported no changes in the NFR size and threshold after a single session of 10 Hz rTMS over the motor cortex^{48, 49}. However, there is some evidence that sensory thresholds, like pain threshold for cold and heat sensation, can be modulated by rTMS^{50, 51}. Therefore, the use of rTMS in isolation could induce changes in the ascending spinal conduction without an effective activation of the descending modulatory system^{49, 51}.

In our study, we demonstrated for the first time an increase of NFR area after the association between high-frequency rTMS and treadmill. The effect of moderate intensity exercise in the NFR has not been fully understood; however, Hosseinzadeh and colleagues (2013) described a significant acute decrease of NFR threshold after a bout of unaccustomed high-intensity exercise. The authors suggested that exercise induced a central sensitization due to the facilitation of the sensory component of the reflex arc after performing the exercise⁵².

Even if our exercise protocol has some divergences in comparison to above-mentioned study, we also speculate that treadmill activated other afferents inputs in the reflex pathways as mechanoreceptors, joint, cutaneous nociceptive and stretch receptors afferents⁵². All these multisensorial inputs converge onto common interneurons in the spinal cord and, together with the enhancement of excitatory drive from the corticospinal tract, could induce an increment of the nociceptive reflex responses⁴⁷.

Changes on MEP's amplitude after session of 20Hz rTMS and Anodal tsDCS combined with treadmill

Our results demonstrated a reduction of MEP's amplitude immediately after experimental session containing anodal tsDCS/treadmill compared to sham tsDCS/treadmill session. Additionally, a session containing 20 Hz rTMS associated with treadmill induced a

significant MEP increase compared to sham rTMS/treadmill session and to the baseline condition.

The mechanisms with regard to how tsDCS influences the corticospinal excitability remains hypothetical. However, some concepts from studies that assessed the cortical effects of tsDCS in isolation in animal and human might help to discuss our findings. Ahmed and Wierasko (2012) demonstrated that tsDCS modulates corticospinal output through changes in neurotransmitters release in the spinal cord of rats¹¹. The same author verified that cathodal tsDCS amplifies segmental responses to cortical drive through the increasing of glutamate release and blocking of the GABA receptors at segmental level in mice⁴⁶. Moreover, recent evidence indicates that tsDCS modulates the transmission in ascending spinal pathways and their cortical target in rats¹² and changes the conductive properties of corticospinal tract through decreasing the number of axons conducting the evoked potential¹³.

Concerning the enhancement in MEP's amplitude following high-frequency rTMS/treadmill, our study confirmed the long lasting effects induced by a stimulation with intensities below resting motor threshold. These findings corroborate with previous reports using high-frequency rTMS in isolation^{53, 54}. We also expand previous knowledge about the rTMS's ability to activate other regions of the primary motor cortex not directly related to stimulation once the increment of FDI motor evoked activity was seen after 20 Hz rTMS delivered over the cortical representation of lower limbs.

The enhancement of corticospinal excitability supports the notion that long period (> 900 stimuli) subthreshold high-frequency rTMS increases transmission in synaptic connections to pyramidal cells on motor cortex⁵⁵. This alteration might occur due to the activation of later waves, I waves, and by the decrease of intracortical inhibition mechanisms in the primary motor cortex^{56, 57}. Considering that high frequency rTMS can enhance practice-dependent plasticity⁵⁸, the association between 20 Hz rTMS and treadmill used in this study induced a lasting increase

in MEP amplitude up to 60 minutes offset stimulation. The prolonged effects may be caused by the inducement of plastic changes in neuronal circuits that potentiated synaptic connections on pyramidal cells in M1 or between pyramidal cells and spinal motoneurons⁵⁵.

General remarks

The strengths of this study include the following (a) methodological rigor during patient's selections, allocation concealment, random sequence generation and blinding of participants; (b) the use of independent and masked assessors and statisticians during study's conduction and data analysis; (c) the use of appropriate wash out interval between the sessions that avoided carry over effects; (d) a clear and transparent data report and (e) an unprecedented comparison between the effects of different montages of rTMS and tsDCS combined with treadmill in the spinal cord and corticospinal excitability.

The main limitation of this study relates to the lack of a session containing only tsDCS or rTMS. This absence hampers the comparison between our results with previous studies that applied tsDCS or rTMS in isolation. Moreover, an extra comparison would help to elucidate differences between the pure effects of the neuromodulatory techniques and potential changes due to metaplasticity mechanisms induced by the association with the treadmill.

In conclusion, our data provide evidence that a single session of tsDCS associated with treadmill modulates the spinal cord excitability in a polarity-dependent way. We showed that anodal tsDCS/treadmill decreases the spinal cord excitability (as the monosynaptic and polysynaptic reflexes) and motor evoked responses while cathodal tsDCS/treadmill increases the polysynaptic reflex. In addition, we demonstrated that 20 HZ rTMS/treadmill reduce monosynaptic reflexes through the increment of descending modulatory system activity but increase polysynaptic responses (nociceptive flexion reflex). In both conditions, the neuromodulatory effects remained up to 60 minutes after stimulation offset, these long-lasting

effects could be related to synaptic plasticity induced by the combination of tsDCS and rTMS with the treadmill.

Acknowledgments

We gratefully thank our volunteers in the study for their consent and cooperation.

References

1. Lefaucheur J-P, André-Obadia N, Antal A, Ayache SS, Baeken C, Benninger DH, et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). *Clinical Neurophysiology*. 2014;125(11):2150-206.
2. Lamy J-C, Ho C, Badel A, Arrigo RT, Boakye M. Modulation of soleus H reflex by spinal DC stimulation in humans. *Journal of neurophysiology*. 2012;108(3):906-14.
3. Rossini P, Burke D, Chen R, Cohen L, Daskalakis Z, Di Iorio R, et al. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an IFCN Committee. *Clinical Neurophysiology*. 2015;126(6):1071-107.
4. Groppa S, Oliviero A, Eisen A, Quartarone A, Cohen L, Mall V, et al. A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee. *Clinical Neurophysiology*. 2012;123(5):858-82.
5. Berardelli A, Inghilleri M, Rothwell J, Romeo S, Curra A, Gilio F, et al. Facilitation of muscle evoked responses after repetitive cortical stimulation in man. *Experimental brain research*. 1998;122(1):79-84.
6. Perez MA, Lungholt BK, Nielsen JB. Short-term adaptations in spinal cord circuits evoked by repetitive transcranial magnetic stimulation: possible underlying mechanisms. *Experimental brain research*. 2005;162(2):202-12.
7. Valero-Cabré A, Oliveri M, Gangitano M, Pascual-Leone A. Modulation of spinal cord excitability by subthreshold repetitive transcranial magnetic stimulation of the primary motor cortex in humans. *Neuroreport*. 2001;12(17):3845-8.
8. Cogiamanian F, Vergari M, Pulecchi F, Marceglia S, Priori A. Effect of spinal transcutaneous direct current stimulation on somatosensory evoked potentials in humans. *Clinical Neurophysiology*. 2008;119(11):2636-40.
9. Cogiamanian F, Vergari M, Schiaffi E, Marceglia S, Ardolino G, Barbieri S, et al. Transcutaneous spinal cord direct current stimulation inhibits the lower limb nociceptive flexion reflex in human beings. *PAIN®*. 2011;152(2):370-5.
10. Winkler T, Hering P, Straube A. Spinal DC stimulation in humans modulates post-activation depression of the H-reflex depending on current polarity. *Clinical Neurophysiology*. 2010;121(6):957-61.
11. Ahmed Z, Wieraszko A. Trans-spinal direct current enhances corticospinal output and stimulation-evoked release of glutamate analog, D-2, 3-3H-aspartic acid. *Journal of Applied Physiology*. 2012;112(9):1576-92.
12. Aguilar J, Pulecchi F, Dilella R, Oliviero A, Priori A, Foffani G. Spinal direct current stimulation modulates the activity of gracile nucleus and primary somatosensory cortex in anaesthetized rats. *The Journal of physiology*. 2011;589(20):4981-96.
13. Bocci T, Vannini B, Torzini A, Mazzatenta A, Vergari M, Cogiamanian F, et al. Cathodal transcutaneous spinal direct current stimulation (tsDCS) improves motor unit recruitment in healthy subjects. *Neuroscience letters*. 2014;578:75-9.

14. Knikou M. Neural control of locomotion and training-induced plasticity after spinal and cerebral lesions. *Clinical Neurophysiology*. 2010;121(10):1655-68.
15. Singh AM, Duncan RE, Neva JL, Staines WR. Aerobic exercise modulates intracortical inhibition and facilitation in a nonexercised upper limb muscle. *BMC sports science, medicine and rehabilitation*. 2014;6(1):1.
16. Meunier S, Kwon J, Russmann H, Ravindran S, Mazzocchio R, Cohen L. Spinal use-dependent plasticity of synaptic transmission in humans after a single cycling session. *The Journal of physiology*. 2007;579(2):375-88.
17. McDonnell MN, Buckley JD, Opie GM, Ridding MC, Semmler JG. A single bout of aerobic exercise promotes motor cortical neuroplasticity. *Journal of Applied Physiology*. 2013;114(9):1174-82.
18. Jubeau M, Rupp T, Perrey S, Temesi J, Wuyam B, Levy P, et al. Changes in voluntary activation assessed by transcranial magnetic stimulation during prolonged cycling exercise. *PloS one*. 2014;9(2):e89157.
19. Perez MA, Lungholt BK, Nielsen JB. Presynaptic control of group Ia afferents in relation to acquisition of a visuo-motor skill in healthy humans. *The Journal of physiology*. 2005;568(1):343-54.
20. Mazzocchio R, Kitago T, Liuzzi G, Wolpaw JR, Cohen LG. Plastic changes in the human H-reflex pathway at rest following skillful cycling training. *Clinical Neurophysiology*. 2006;117(8):1682-91.
21. Heide A, Winkler T, Helms H, Nitsche M, Trenkwalder C, Paulus W, et al. Effects of transcutaneous spinal direct current stimulation in idiopathic restless legs patients. *Brain stimulation*. 2014;7(5):636-42.
22. Perrotta A, Bolla M, Anastasio M, Serrao M, Sandrini G, Pierelli F. Modulation of temporal summation threshold of the nociceptive withdrawal reflex by transcutaneous spinal direct current stimulation in humans. *Clinical Neurophysiology*. 2016;127(1):755-61.
23. Hubli M, Dietz V, Schrafl-Altermatt M, Bolliger M. Modulation of spinal neuronal excitability by spinal direct currents and locomotion after spinal cord injury. *Clinical Neurophysiology*. 2013;124(6):1187-95.
24. Rastgoo M, Naghdi S, Nakhostin Ansari N, Olyaei G, Jalaei S, Forogh B, et al. Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on lower extremity spasticity and motor function in stroke patients. *Disability and rehabilitation*. 2016;38(19):1918-26.
25. Priori A, Ciocca M, Parazzini M, Vergari M, Ferrucci R. Transcranial cerebellar direct current stimulation and transcutaneous spinal cord direct current stimulation as innovative tools for neuroscientists. *The Journal of physiology*. 2014;592(16):3345-69.
26. Kumru H, Murillo N, Vidal Samso J, Valls-Sole J, Edwards D, Pelayo R, et al. Reduction of spasticity with repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with spinal cord injury. *Neurorehabilitation and neural repair*. 2010;24(5):435-41.
27. Bolognini N, Pascual-Leone A, Fregni F. Using non-invasive brain stimulation to augment motor training-induced plasticity. *Journal of neuroengineering and rehabilitation*. 2009;6(1):8.
28. Rocha S, Silva E, Foerster Á, Wiesiolek C, Chagas AP, Machado G, et al. The impact of transcranial direct current stimulation (tDCS) combined with modified constraint-induced movement therapy (mCIMT) on upper limb function in chronic stroke: a double-blind randomized controlled trial. *Disability and rehabilitation*. 2016;38(7):653-60.
29. Cosentino G, Fierro B, Paladino P, Talamanca S, Vigneri S, Palermo A, et al. Transcranial direct current stimulation preconditioning modulates the effect of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation in the human motor cortex. *European Journal of Neuroscience*. 2012;35(1):119-24.

30. Garber CE, Blissmer B, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee I-M, et al. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 2011;43(7):1334-59.
31. Nitsche MA, Cohen LG, Wassermann EM, Priori A, Lang N, Antal A, et al. Transcranial direct current stimulation: state of the art 2008. *Brain stimulation*. 2008;1(3):206-23.
32. Brunoni AR, Amadera J, Berbel B, Volz MS, Rizzerio BG, Fregni F. A systematic review on reporting and assessment of adverse effects associated with transcranial direct current stimulation. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2011;14(8):1133-45.
33. Galvão SCB, dos Santos RBC, dos Santos PB, Cabral ME, Monte-Silva K. Efficacy of coupling repetitive transcranial magnetic stimulation and physical therapy to reduce upper-limb spasticity in patients with stroke: a randomized controlled trial. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2014;95(2):222-9.
34. Panizza M, Balbi P, Russo G, Nilsson J. H-reflex recovery curve and reciprocal inhibition of H-reflex of the upper limbs in patients with spasticity secondary to stroke. *American journal of physical medicine & rehabilitation*. 1995;74(5):357-63.
35. Bhatia B, Kumar A, Prakash U. Effect of prematurity and intrauterine growth restriction on H-reflex recovery cycle in neonates. *Neuroscience letters*. 2011;488(2):107-11.
36. Kumru H, Albu S, Valls-Sole J, Murillo N, Tormos JM, Vidal J. Influence of spinal cord lesion level and severity on H-reflex excitability and recovery curve. *Muscle & nerve*. 2015;52(4):616-22.
37. Neziri AY, Andersen OK, Petersen-Felix S, Radanov B, Dickenson AH, Scaramozzino P, et al. The nociceptive withdrawal reflex: normative values of thresholds and reflex receptive fields. *European journal of pain*. 2010;14(2):134-41.
38. Rhudy JL, France CR. Defining the nociceptive flexion reflex (NFR) threshold in human participants: a comparison of different scoring criteria. *Pain*. 2007;128(3):244-53.
39. Dongés SC, D'Amico JM, Butler JE, Taylor JL. The effects of cervical transcutaneous spinal direct current stimulation on motor pathways supplying the upper limb in humans. *PloS one*. 2017;12(2):e0172333.
40. Harel NY, Martinez SA, Knezevic S, Asselin PK, Spungen AM. Acute changes in soleus H-reflex facilitation and central motor conduction after targeted physical exercises. *Journal of Electromyography and Kinesiology*. 2015;25(3):438-43.
41. Motl RW, Knowles BD, Dishman RK. Acute bouts of active and passive leg cycling attenuate the amplitude of the soleus H-reflex in humans. *Neuroscience letters*. 2003;347(2):69-72.
42. Crone C, Nielsen J. Central control of disynaptic reciprocal inhibition in humans. *Acta Physiologica*. 1994;152(4):351-63.
43. Grecco LH. Transcutaneous spinal stimulation as a therapeutic strategy for spinal cord injury: state of the art. *Journal of Neurorestoratology*. 2015;3:73-82.
44. Truini A, Vergari M, Biasiotta A, Cesa S, Gabriele M, Stefano G, et al. Transcutaneous spinal direct current stimulation inhibits nociceptive spinal pathway conduction and increases pain tolerance in humans. *European Journal of Pain*. 2011;15(10):1023-7.
45. Price DD, Greenspan JD, Dubner R. Neurons involved in the exteroceptive function of pain. *Pain*. 2003;106(3):215-9.
46. Ahmed Z. Effects of cathodal trans-spinal direct current stimulation on mouse spinal network and complex multijoint movements. *Journal of Neuroscience*. 2013;33(37):14949-57.

47. Schomburg ED. Spinal functions in sensorimotor control of movements. *Neurosurgical review*. 1990;13(3):179-85.
48. Mylius V, Reis J, Knaack A, Haag A, Oertel WH, Rosenow F, et al. High-frequency rTMS of the motor cortex does not influence the nociceptive flexion reflex but increases the unpleasantness of electrically induced pain. *Neuroscience letters*. 2007;415(1):49-54.
49. Nahmias F, Debes C, de Andrade DC, Mhalla A, Bouhassira D. Diffuse analgesic effects of unilateral repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in healthy volunteers. *PAIN®*. 2009;147(1):224-32.
50. Summers J, Johnson S, Pridmore S, Oberoi G. Changes to cold detection and pain thresholds following low and high frequency transcranial magnetic stimulation of the motor cortex. *Neuroscience letters*. 2004;368(2):197-200.
51. Johnson S, Summers J, Pridmore S. Changes to somatosensory detection and pain thresholds following high frequency repetitive TMS of the motor cortex in individuals suffering from chronic pain. *Pain*. 2006;123(1):187-92.
52. Hosseinzadeh M, Andersen OK, Arendt-Nielsen L, Madeleine P. Pain sensitivity is normalized after a repeated bout of eccentric exercise. *European journal of applied physiology*. 2013;113(10):2595-602.
53. Peinemann A, Reimer B, Lör C, Quartarone A, Münchau A, Conrad B, et al. Long-lasting increase in corticospinal excitability after 1800 pulses of subthreshold 5 Hz repetitive TMS to the primary motor cortex. *Clinical neurophysiology*. 2004;115(7):1519-26.
54. Arai N, Okabe S, Furubayashi T, Mochizuki H, Iwata NK, Hanajima R, et al. Differences in after-effect between monophasic and biphasic high-frequency rTMS of the human motor cortex. *Clinical Neurophysiology*. 2007;118(10):2227-33.
55. Quartarone A, Bagnato S, Rizzo V, Morgante F, Sant'Angelo A, Battaglia F, et al. Distinct changes in cortical and spinal excitability following high-frequency repetitive TMS to the human motor cortex. *Experimental brain research*. 2005;161(1):114-24.
56. Fitzgerald PB, Fountain S, Daskalakis ZJ. A comprehensive review of the effects of rTMS on motor cortical excitability and inhibition. *Clinical neurophysiology*. 2006;117(12):2584-96.
57. Terao Y, Ugawa Y. Basic mechanisms of TMS. *Journal of clinical neurophysiology*. 2002;19(4):322-43.
58. Sadowski B. Plasticity of the Cortical Motor System. *Journal of Human Kinetics*. 2008;20:5-22.

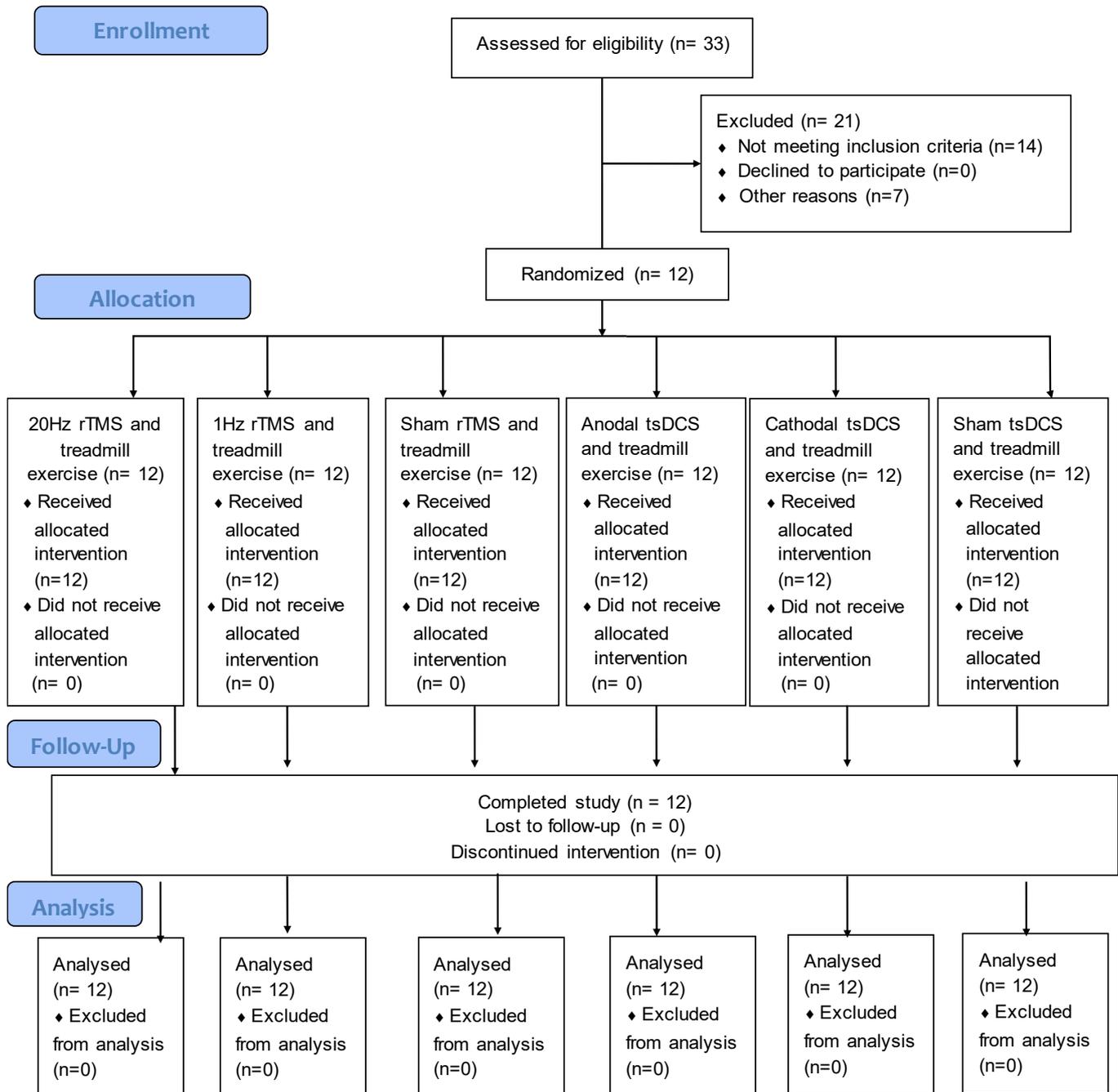


Figure 1. CONSORT Flow diagram.

TMS: Transcranial Magnetic Stimulation. tsDCS: trans-spinal Direct Current Stimulation.

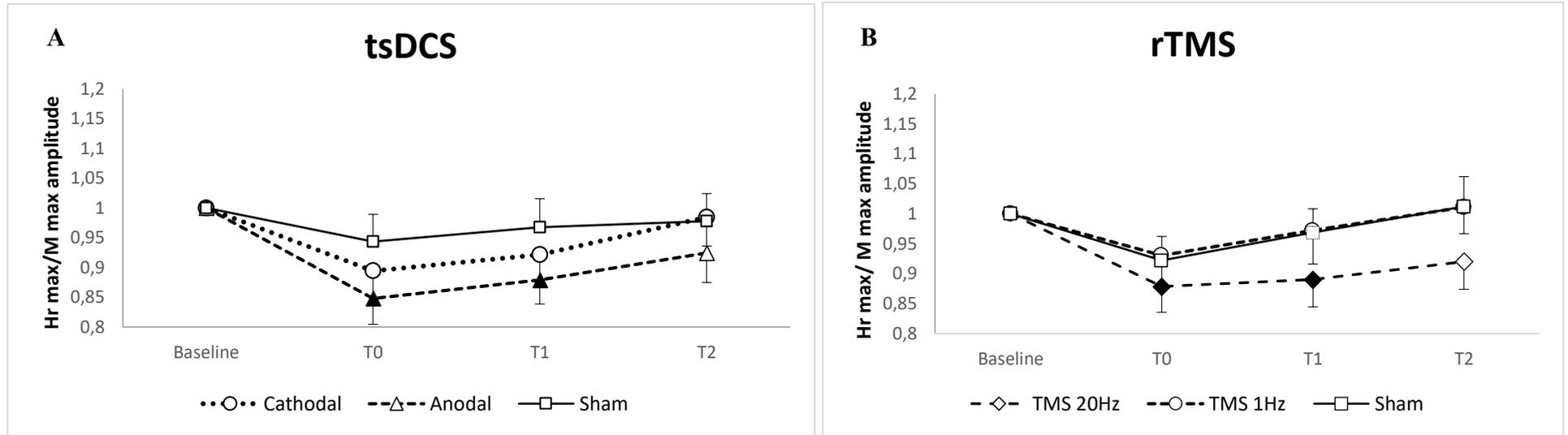


Figure 2. Induced effects of non-invasive stimulation combined with treadmill exercise in the monosynaptic reflex activity.

A: Hr max/ Mmax amplitude ratio after repetitive transcranial magnetic stimulation associated with treadmill. **B:** Hr max/ Mmax amplitude ratio after trans-spinal direct current stimulation associated with treadmill. Shown are the mean \pm SE of baseline-standardized Hr max/ M max amplitude ratio before (baseline), immediately after (T0), 30 minutes (T30) and 60 minutes after experimental conditions (T60). Filled symbols indicate significant ($p < 0.05$) changes compared to baseline.

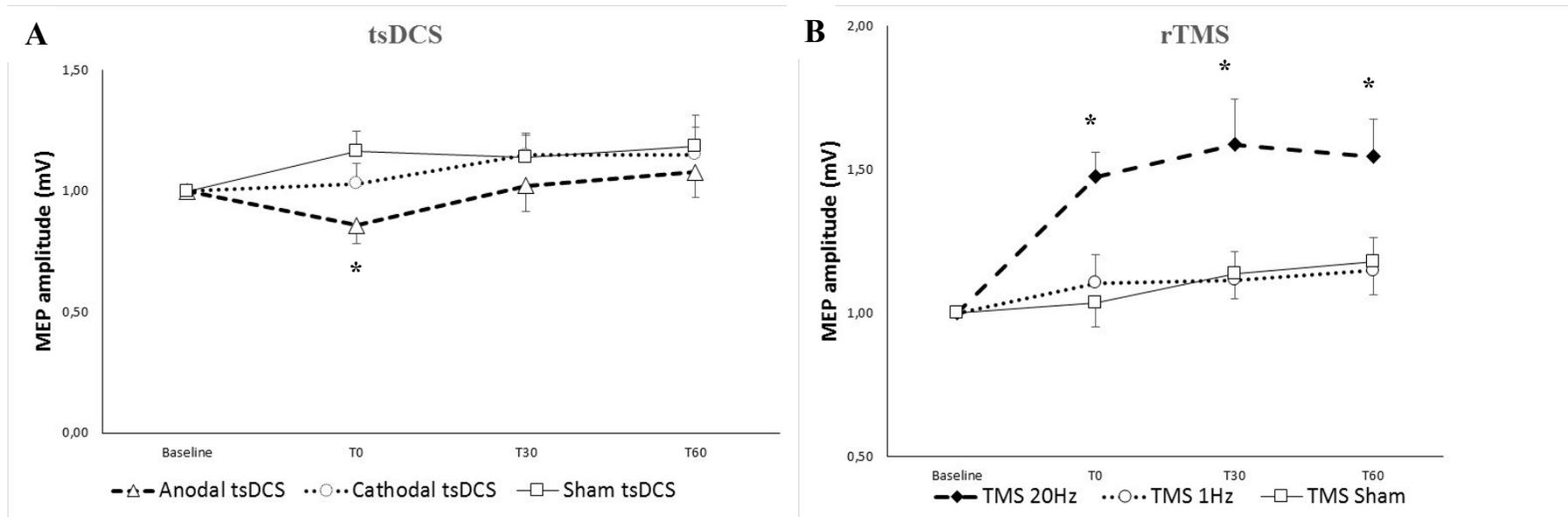


Figure 3. Induced effects of non-invasive stimulation combined with treadmill in the corticospinal excitability.

A: MEP amplitude after repetitive transcranial magnetic stimulation associated with treadmill. **B:** MEP amplitude after trans-spinal direct current stimulation associated with treadmill. Shown are the mean \pm SE of baseline-standardized MEP amplitude before (baseline), immediately after (T0), 30 minutes (T30) and 60 minutes after experimental conditions (T60). Filled symbols indicate significant ($p < 0.05$) changes compared to baseline. * $p < 0.05$ compared to sham condition.

Table 1. Description of feed habits, motivation, amount of sleep, fatigue level and the neurophysiological parameters at baseline.

	Anodal tsDCS	Cathodal tsDCS	Sham tsDCS	20 Hz rTMS	1Hz rTMS	Sham rTMS	p-value
Feed habits - n (%)							
Intake of stimulant foods and drinks (e.g. coffee, tea, energy drinks)	6 (50)	4 (33.3)	4 (33.3)	2(16.66)	4 (33.3)	5(41.7)	0.66
Motivation - n (%)							
Session							
Not motivated	1 (8.33)	-	-	-	-	-	
Poorly motivated	2 (16.7)	2 (16.7)	1 (8.33)	1 (8.33)	1 (8.33)	-	
Middling motivated	4 (33.3)	4 (33.3)	7 (58.3)	5 (41.7)	6 (50)	6 (50)	0.88
Very motivated	4 (33.3)	4 (33.3)	3 (25)	6 (50)	3 (25)	5 (41.7)	
Extremely motivated	1 (8.33)	2 (16.7)	1 (8.33)	-	2 (16)	1 (8.33)	
Week							
Not motivated	-	-	-	-	-	-	
Poorly motivated	-	-	1 (8.3)	1 (8.3)	-	1 (8.3)	
Middling motivated	8 (66.7)	7 (58.3)	6 (50)	6 (50)	3 (25)	4 (33.3)	0.48
Very motivated	4(33.3)	3 (25)	5 (41.7)	5 (41.7)	8 (66.7)	5 (41.7)	
Extremely motivated	-	2 (16.7)	-	-	1 (8.3)	2 (16.7)	
Amount of sleep in minutes (mean ± SD)	395 ± 58.39	437.5 ± 48.64	397.5 ± 58.79	437.5 ± 79.33	402.5 ± 68.24	427.5 ± 62.83	0.19
Sleep quality (median)	8	7.5	7	8	7	8	0.35
Fatigue level (median)	5	4.5	5	4.5	5	3	0.13
Hr max/M max amplitude (mV)	55.50 ± 17.75	55.87 ± 16.60	50.62 ± 18.43	53.02 ± 16.07	50.88 ± 17.83	48.80 ± 15.95	0.89
MEP amplitude (mV)	1.04 ± 0.51	1.03 ± 0.67	0.99 ± 0.51	0.99 ± 0.39	0.95 ± 0.44	1.15 ± 0.58	0.96
NFR area (nV*s)	515.38 ± 160.89	451.22 ± 302.24	498.92 ± 200.50	447.78 ± 157.95	480.19 ± 93.97	548.25 ± 85.13	0.88

Hr: Hoffmann Reflex. MEP: Motor evoked Potential. NFR: Nociceptive Flexion Reflex.

Table 2. Baseline-standardized values for motor evoked potential, maximal Hoffmann reflex and M-wave ration, nociceptive flexor reflex and homosynaptic depression after repetitive transcranial magnetic stimulation and trans-spinal direct current stimulation associated with physical exercise sessions.

	tsDCS			rTMS			Repeated measures ANOVA
	Anodal	Cathodal	Sham	20 Hz	1Hz	Sham	
PEM (mV)							
T0	0.86 ± 0.27*	1.03 ± 0.29	1.16 ± 0.29	1.47 ± 0.29*	1.10 ± 0.39	1.03 ± 0.34	Stimulation: F = 4.82; p = 0.01; power = 0.96
T30	1.02 ± 0.37	1.15 ± 0.29	1.14 ± 0.34	1.59 ± 0.52*	1.12 ± 0.39	1.14 ± 0.39	Time: F = 7.18; p = 0.01; power = 0.96
T60	1.08 ± 0.37	1.15 ± 0.40	1.18 ± 0.45	1.54 ± 0.43*	1.15 ± 0.28	1.18 ± 0.40	Stimulation vs Time: F = 1.72; p = 0.05, power = 0.90
H max/ M max (mV)							
T0	0.85 ± 0.15	0.89 ± 0.18	0.94 ± 0.16	0.88 ± 0.15	0.93 ± 0.17	0.92 ± 0.14	Stimulation: F = 1.22; p = 0.31; power = 0.40
T30	0.88 ± 0.14	0.92 ± 0.16	0.97 ± 0.17	0.89 ± 0.16	0.97 ± 0.19	0.97 ± 0.14	Time: F = 4.81; p = 0.007; power = 0.86
T60	0.92 ± 0.17	0.98 ± 0.17	0.98 ± 0.16	0.92 ± 0.16	1.01 ± 0.15	1.01 ± 0.17	Stimulation vs Time: F = 0.64; p = 0.83, power = 0.41
NFR (nV*s)							
T0	0.89 ± 0.26 *	1.36 ± 0.35	1.19 ± 0.35	1.90 ± 0.51*	0.88 ± 0.39	1.03 ± 0.30	Stimulation: F = 2.12; p = 0.15; power = 0.46
T30	0.85 ± 0.23	1.24 ± 0.39	1.01 ± 0.27	1.76 ± 0.47*	0.94 ± 0.42	0.91 ± 0.34	Time: F = 1.31; p = 0.35; power = 0.21
T60	0.94 ± 0.35	1.17 ± 0.36 *	0.96 ± 0.18	1.57 ± 0.59*	0.93 ± 0.28	0.88 ± 0.31	Stimulation vs Time: F = 2.74; p = 0.009, power = 0.95
HD (mV)							
ISI 150 ms							
T0	1.03 ± 0.29	0.91 ± 0.24	0.96 ± 0.27	0.95 ± 0.27	0.83 ± 0.21	0.94 ± 0.25	Stimulation: F = 0.48; p = 0.80; power = 0.17
T30	1.11 ± 0.39	1.09 ± 0.37	1.03 ± 0.26	0.94 ± 0.24	0.98 ± 0.20	0.97 ± 0.11	Time: F = 2.40; p = 0.12; power = 0.42
T60	1.01 ± 0.32	1.05 ± 0.23	0.91 ± 0.40	0.91 ± 0.21	0.99 ± 0.16	0.91 ± 0.28	Stimulation vs Time: F = 0.78; p = 0.07, power = 0.49
ISI 200 ms							
T0	0.98 ± 0.20	1.00 ± 0.21	0.84 ± 0.25	1.01 ± 0.37	1.00 ± 0.20	1.14 ± 0.37	Stimulation: F = 0.56; p = 0.73; power = 0.18
T30	0.98 ± 0.26	0.95 ± 0.23	0.93 ± 0.10	0.99 ± 0.26	1.14 ± 0.32	1.07 ± 0.23	Time: F = 0.91; p = 0.45; power = 0.26
T60	0.94 ± 0.16	0.97 ± 0.21	0.85 ± 0.26	0.95 ± 0.21	1.02 ± 0.17	0.90 ± 0.32	Stimulation vs Time: F = 0.94; p = 0.53, power = 0.58
ISI 250 ms							

T0	1.01 ± 0.13	1.04 ± 0.22	0.96 ± 0.26	0.93 ± 0.20	1.05 ± 0.23	0.97 ± 0.16	Stimulation: F = 1.10; p = 0.37; power = 0.22 Time: F = 0.99; p = 0.42; power = 0.27 Stimulation vs Time: F = 1.11; p = 0.36, power = 0.66
T30	0.84 ± 0.18	0.95 ± 0.18	0.99 ± 0.20	0.90 ± 0.26	1.06 ± 0.20	1.03 ± 0.25	
T60	0.89 ± 0.23	0.94 ± 0.14	1.02 ± 0.20	1.01 ± 0.26	1.10 ± 0.19	0.85 ± 0.32	
ISI 300 ms							
T0	0.96 ± 0.19	0.83 ± 0.31	0.89 ± 0.17	0.87 ± 0.21	0.92 ± 0.26	0.94 ± 0.26	Stimulation: F = 0.54; p = 0.74; power = 0.18 Time: F = 2.48; p = 0.16; power = 0.30 Stimulation vs Time: F = 0.79; p = 0.70, power = 0.48
T30	0.93 ± 0.20	0.99 ± 0.32	1.00 ± 0.12	1.00 ± 0.25	1.03 ± 0.22	1.02 ± 0.21	
T60	0.97 ± 0.23	0.98 ± 0.18	0.95 ± 0.07	1.00 ± 0.29	1.04 ± 0.24	0.92 ± 0.22	

Reported values for mean ± SD of baseline-standardized for motor evoked potential (MEP), maximal Hoffmann reflex and M-wave ration (H max/M max) amplitude, nociceptive flexion reflex (NFR) area and homosynaptic depression (HD) amplitude, immediately after (T0), 30 minutes (T30) and 60 minutes (T60) after non-invasive stimulation associated with physical exercise. Bold numbers indicate significant (p < 0.05) changes compared to baseline. ISI: Interstimulus interval; *p < 0.05 vs. sham condition.

APÊNDICE C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Modelo para maiores de 18 anos; de acordo com a Resolução 466/12 - CNS)

Convidamos o (a) Sr.(a) para participar, como voluntário (a), da pesquisa “**ESTIMULAÇÃO CRANIANA NÃO INVASIVA ASSOCIADO AO TREINO DE SUPORTE DE PESO CORPORAL NA RECUPERAÇÃO SENSORIOMOTORA DE PACIENTES LESADOS MEDULARES**”, que está sob a responsabilidade do pesquisador PLÍNIO LUNA DE ALBUQUERQUE, endereço profissional: Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Departamento de Fisioterapia. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária. Recife/PE- Brasil CEP: 50670-901. Telefone profissional: (81) 2126-7579. Telefone celular: (81) 97665347 (inclusive ligações a cobrar) e e-mail pessoal: plinioluna@gmail.com. O projeto está sob a orientação da professora Kátia Karina do Monte-Silva, telefone: (81) 2126-8939 / Fax: (81) 2126-8939 / e-mail: monte.silvakk@gmail.com.

Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar a fazer parte do estudo, rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa o (a) Sr.(a) não será penalizado (a) de forma alguma. O (a) Senhor (a) tem o direito de retirar o consentimento a qualquer tempo, sem qualquer penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

O (a) senhor (a) está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa com o objetivo de analisar os efeitos da combinação de duas técnicas da Fisioterapia (caminhada na esteira e estimulação não invasiva do sistema nervoso central). Se concordar em participar, uma entrevista inicial será feita para coletar os seus dados pessoais e o senhor (a) será avaliado (a) em três etapas (Estudo I, II e III).

Na primeira fase do estudo, estudo I, o (a) pesquisador (a) avaliará sua atividade cerebral por meio da Estimulação Magnética Transcraniana (EMT) e a avaliação dos reflexos da medula, estas avaliações podem ser explicadas para o senhor (a) sempre que solicitado. As avaliações serão realizadas antes e após uma caminhada na esteira durante 20 minutos.

Nas fases posteriores (estudo II e III), o (a) fisioterapeuta pesquisador (a) fará perguntas, utilizará questionários e realizará testes e avaliações para saber se o senhor (a) poderá ou não participar da pesquisa. Será preciso realizar uma avaliação sobre a força muscular dos músculos do braço, da perna e do tronco e a inspeção quanto à presença de deformidades ósseas. O (a) senhor também (a) será avaliado (a) quanto à sua atividade cerebral e responderá perguntas pessoais. Estas informações são necessárias e importantes porque servirão de base para a sua avaliação e tratamento. Além disso, o (a) fisioterapeuta pedirá que o (a) senhor (a) faça alguns testes para avaliar como está a sua independência para realizar tarefas do dia-a-dia.

Os indivíduos que, como o senhor (a), sofreram de uma lesão na medula, serão submetidos a 15 sessões de tratamento sendo três no estudo II e 12 no estudo III. No estudo II, serão realizadas três sessões (uma vez por semana, com intervalo mínimo de sete dias entre elas). O senhor (a) será avaliado (a) antes da sessão, imediatamente após e nos próximos 30 e 60 minutos. Durante as três sessões os indivíduos com lesão medular serão divididos em três grupos. A diferença entre os grupos está na técnica de estimulação não invasiva aplicada, existindo dois grupos de estimulação não invasiva real e um grupo de estimulação não invasiva

fictícia (sham). É importante esclarecer que, para garantir a neutralidade durante a execução do projeto, não será permitido que o senhor (a) e o (a) fisioterapeuta tenham o conhecimento sobre qual grupo o senhor (a) pertence. Todos os indivíduos serão incluídos no estudo III.

No estudo III serão realizadas 12 sessões (três vezes por semana, com intervalo mínimo de 48 horas entre elas). O senhor (a) será avaliado (a) antes do início do tratamento, ao final do tratamento e um mês após a última avaliação. Durante as 15 sessões os indivíduos com lesão medular serão divididos em dois grupos. Todos os pacientes receberão tratamento fisioterapêutico na esteira com o suporte de peso corporal (equipamento que o ajudará a permanecer de pé). A diferença entre os grupos está na técnica de estimulação não-invasiva aplicada, existindo dois grupos estimulação não-invasiva real e um grupo de estimulação não-invasiva fictícia (sham). É importante esclarecer que, para garantir a neutralidade durante a execução do projeto, não será permitido que o senhor (a) e o (a) fisioterapeuta tenham o conhecimento sobre qual grupo o senhor (a) pertence.

O estudo que está sendo feito oferece poucos riscos à sua saúde. O senhor poderá sentir algum cansaço durante a avaliação ou tratamento. Caso deseje, o senhor poderá interromper a sessão a qualquer momento. Este estudo lhes fornecerá avaliação e tratamento gratuitos durante o período da sua participação. As informações geradas no estudo serão úteis para o seu acompanhamento médico e fisioterapêutico, como por exemplo, sua atividade cortical, atividade muscular, função motora e independência nas atividades diárias. O (a) senhor (a) também poderá esclarecer suas dúvidas sobre a sua doença e receber orientações importantes para o seu desempenho diário. Além disso, com a sua participação na pesquisa, o senhor (a) também estará contribuindo para o estudo da lesão medular e fornecendo informações que podem ser aplicadas a outras pessoas que tem essa doença.

As informações desta pesquisa serão confidenciais e divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas. Não haverá identificação dos participantes, a não ser entre os responsáveis pelo estudo. Desta forma, asseguramos o sigilo sobre seus dados, que ficarão armazenados empastados de arquivo sob a responsabilidade do Laboratório de Neurociência Aplicada (pelo período de 5 anos).

O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de despesas).

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____,
CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a

escuta da leitura) deste documento e ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com a pesquisadora responsável, concordo em participar do estudo “ESTIMULAÇÃO CRANIANA NÃO INVASIVA ASSOCIADO AO TREINO DE SUPORTE DE PESO CORPORAL NA RECUPERAÇÃO SENSORIOMOTORA DE PACIENTES LESADOS MEDULARES”, como voluntário (a).

Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo (a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data

Assinatura do participante (ou responsável legal):

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

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura

APÊNDICE D – FICHA DE TRIAGEM

DATA: ____ / ____ / ____

Horário: _____

Avaliador:

**Identificação do
 paciente:** _____

1. DADOS

Nome: _____

—

Data de Nascimento: ____ / ____ / ____ Idade: _____

Sexo: _____ Est. Civil: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

____ Naturalidade: _____ Médicos: _____

Escolaridade: _____ Profissão: _____

2. CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Voluntário saudável incluído () Voluntário saudável excluído ()

S/ N	Exclusão
	Gravidez
	Lesão traumato-ortopédica / reumática que limite ADM do MS
	Implante metálico face e/ou craniano
	Marca-passo cardíaco
	Crises convulsivas/Epilepsia
	Uso de substâncias psicoativas
	Lesões prévias ou doenças neurológica associada
	Doença sistêmica grave

	Nível inadequado de atividade física
	Indivíduo sinistro
	Nível inadequado de ansiedade e/ou depressão

Outro.

Qual? _____

() Indivíduo não apresenta nenhum dos critérios de exclusão

3. PERGUNTAS IMPORTANTES

		SIM	NÃO
3.1.	Você já teve alguma reação adversa ao EMT?		
3.2.	Você já fez um exame de Eletroencefalograma (EEG)?		
3.3.	Você já teve traumatismo craniano (TCE) incluindo neurocirurgia?		
3.4.	Você sofre de dor de cabeça frequente ou severa?		
3.5.	Você já teve alguma outra doença que causou uma lesão cerebral?		
3.6.	Algum de seus familiares tem epilepsia?		
3.7.	Você precisa de explicação adicional sobre o EMT e sobre os riscos relacionados a seu uso?		

Contato emergência /parentesco:

Possui plano de saúde? Sim () Não ()

Em caso de emergência, qual o hospital de sua preferência? _____

4. RELATIVO AO ESTADO DE SAÚDE E DOENÇA

Internação hospitalar? Sim () Não () se sim, qual o período de internação? _____

Massa: _____ Altura: _____ PA: _____ FC: _____

Possui: HAS () diabetes () labirintite () Outras comorbidades Sim () Não () se sim, quais? _____

Hist.familiar: _____

Uso de medicação Sim () Não () se sim, quais? Em quais horários?

5. PREFERÊNCIA MANUAL: () Destro () Sinistro

Inventário de Dominância Lateral de Edimburgo

Por favor, indique sua preferência no uso das mãos nas seguintes atividades pela colocação do sinal + na coluna apropriada. Onde a preferência é tão forte que você nunca usaria a outra mão a menos que fosse forçado a usá-la, coloque ++. Se em algum caso a mão utilizada é realmente indiferente coloque + em ambas as colunas. Algumas das atividades requerem ambas as mãos. Nestes casos a parte da tarefa, ou objeto, para qual preferência manual é desejada é indicada entre parênteses.

Por favor, tente responder a todas as questões, e somente deixe em branco se não tiver qualquer experiência com o objeto ou tarefa.

TAREFA	ESQUERDA	DIREITA
Escrever		
Desenhar		
Arremessar		
Uso de tesouras		
Escovar os dentes		
Uso de faca (sem garfo)		
Uso de colher		
Uso de vassoura (mão superior)		
Ascender um fósforo (mão do fósforo)		
Abrir uma caixa (mão da tampa)		
TOTAL		

6. QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – VERSÃO CURTA. () Sedentário () Irregularmente ativo () Excluído

As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na **ÚLTIMA semana**. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são MUITO importantes. Por favor responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo.

Para responder as questões lembre que:

- ✓ atividades físicas VIGOROSAS são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem você respirar MUITO mais forte que o normal
- ✓ atividades físicas MODERADAS são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem você respirar UM POUCO mais forte que o normal

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza por pelo menos 10 minutos contínuos de cada vez.

1a) Em quantos dias da última semana você CAMINHOU por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

Dias _____ por SEMANA () Nenhum

1b) Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando por dia? Horas: _____ Minutos: _____

2a) Em quantos dias da última semana, você realizou atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA)

Dias _____ por SEMANA () Nenhum

2b) Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia? Horas: _____ Minutos: _____

3a) Em quantos dias da última semana, você realizou atividades VIGOROSAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar MUITO sua respiração ou batimentos do coração. Dias _____ por SEMANA () Nenhum

3b) Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia? Horas: _____ Minutos: _____

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa, visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado **assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.**

4a) Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana? Horas:
 _____ **Minutos:** _____

4b) Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana? Horas: _____ **Minutos:** _____

7. ESCALA HOSPITALAR DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO

Este questionário ajudará o pesquisador a saber como você está se sentindo. Leia todas as frases. Marque com um "X" a resposta que melhor corresponder a como você tem se sentido na ÚLTIMA SEMANA. Não é preciso ficar pensando muito em cada questão. Neste questionário as respostas espontâneas têm mais valor do que aquelas em que se pensa muito. Marque apenas uma resposta para cada pergunta.

A (1) Eu me sinto tenso ou contraído:

- A maior parte do tempo
- Boa parte do tempo
- De vez em quando
- Nunca

D (2) Eu ainda sinto gosto pelas mesmas coisas de antes:

- Sim, do mesmo jeito que antes
- Não tanto quanto antes
- Só um pouco
- Já não sinto mais prazer em nada

A (3) Eu sinto uma espécie de medo, como se alguma coisa ruim fosse acontecer:

- Sim, e de um jeito muito forte
- Sim, mas não tão forte
- Um pouco, mas isso não me preocupa

Não sinto nada disso

D (4) Dou risada e me divirto quando vejo coisas engraçadas:

Do mesmo jeito que antes

Atualmente um pouco menos

Atualmente bem menos

Não consigo mais

A (5) Estou com a cabeça cheia de preocupações:

A maior parte do tempo

Boa parte do tempo

De vez em quando

Raramente

D (6) Eu me sinto alegre:

A maior parte do tempo

Muitas vezes

Poucas vezes

Nunca

A (7) Consigo ficar sentado a vontade e me sentir relaxado:

Sim, quase sempre

Muitas vezes

Poucas vezes

Nunca

D (8) Eu estou lento para pensar e fazer as coisas:

Quase sempre

Muitas vezes

De vez em quando

Nunca

A (9) Eu tenho uma sensação ruim de medo, como um frio na barriga ou um aperto no estômago: Nunca

De vez em quando

Muitas vezes

Quase sempre

D (10) Eu perdi o interesse em cuidar da minha aparência:

- Completamente
- Não estou mais me cuidando como deveria
- Talvez não tanto quanto antes
- Me cuido do mesmo jeito que antes

A (11) Eu me sinto inquieto, como se eu não pudesse ficar parado em lugar nenhum:

- Sim, demais
- Bastante
- Um pouco
- Não me sinto assim

D (12) Fico esperando animado as coisas boas que estão por vir:

- Do mesmo jeito que antes
- Um pouco menos do que antes
- Bem menos do que antes
- Quase nunca

A (13) De repente, tenho a sensação de entrar em pânico:

- A quase todo momento
- Várias vezes
- De vez em quando
- Não sinto isso

D (14) Consigo sentir prazer quando assisto a um bom programa de televisão, de rádio ou quando leio alguma coisa:

- Quase sempre
- Várias vezes
- Poucas vezes
- Quase nunca

APÊNDICE E- FICHA DE EVOLUÇÃO

Identificação do voluntário

saudável: _____

Avaliador: _____

Nome: _____

—

sessão	Data: _____	Horário: _____	Código da sessão: _____
---------------	-------------	----------------	-------------------------

PA ANTES: _____

PA DEPOIS:

Marcação T11-

T12: _____

NOITE DE SONO

Horas de sono na noite anterior: _____ Qualidade do sono: _____

ALIMENTAÇÃO (24 horas)

() Chocolate () Café () Chá () Refrigerante () Energéticos () Açaí

() Guaraná do Amazonas () Bebidas alcoólicas () Outros

() Quantidade e horário da ingestão:

—

MOTIVAÇÃO

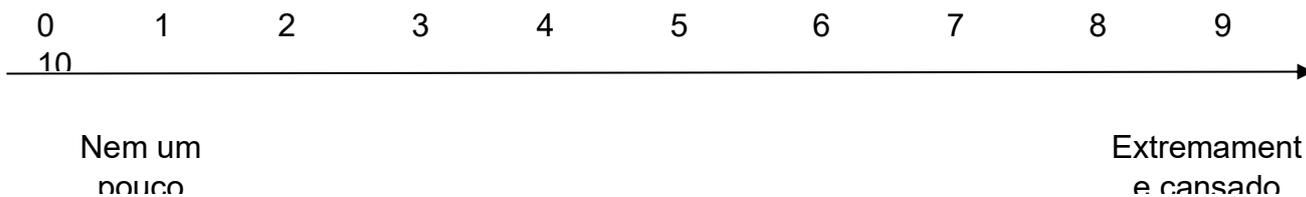
Em geral quanto você se sentiu motivado na última semana?

() nem um pouco () pouco () mais ou menos () muito () extremamente

Quão motivado você está para sessão?

() nem um pouco () pouco () mais ou menos () muito () extremamente

CANSAÇO



MEDIDAS CORTICAIS

Hora de início: ____ Hora de início T0: ____ Hora de início T30: ____ Hora de início T60: ____

Distância trago-trago: _____ Distância naso-ínion: _____

Descrição do ponto motor: _____

HEMISFÉRIO ESQUERDO (CONGELADO)

LMR	
-----	--

MEDIDAS MEDULARES

Hora de início: ____ Hora de início T0: ____ Hora de início T30: ____ Hora de início T60: ____

Observações sobre a captação da eletromiografia do músculo sóleo: _____

—

Observações sobre a captação da eletromiografia do músculo bíceps femoral: _____

—

EXCITABILIDADE MEDULAR

Intensidade do limiar (Congelado)	
rHmáx	
DPa	

TREINO DE ESTEIRA

Range (64%-76% da FC máx): _____

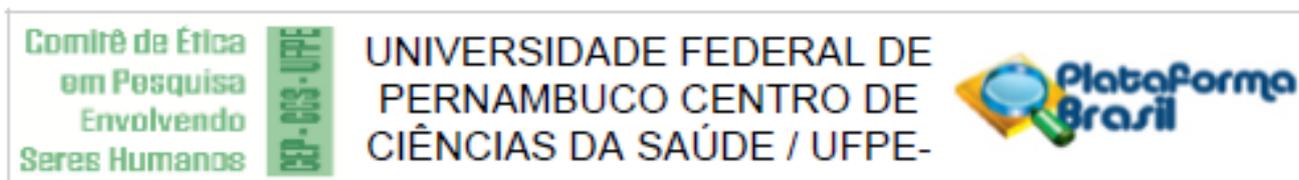
	INICIAL	3	6	9	12	15	18	FINAL
BORG								
FC								
VELOCIDADE								
INCLINAÇÃO								

AVALIADOR/ACADÊMICO: _____

ESTIMULADOR:

Você acha que este paciente pertenceu a que grupo? Experimental () Sham ()

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTIMULAÇÃO NÃO INVASIVA DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL ASSOCIADA AO TREINO LOCOMOTOR COM SUPORTE DE PESO CORPORAL NA RECUPERAÇÃO DE PACIENTES LESADOS MEDULARES

Pesquisador: PLÍNIO LUNA DE ALBUQUERQUE

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 41231715.8.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.053.059

Data da Relatoria: 30/04/2015

Apresentação do Projeto:

Trata-se de pesquisa de aluno da PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO COPORTAMENTO/UFPE, Orientado pela Profª. Dra. Kátia Karina do Monte Silva. O presente projeto de pesquisa propõe-se através de um ensaio clínico investigar a inovação terapêutica da associação do treino de marcha com suporte de peso com técnicas de estimulação não invasiva do SNC na tentativa de promover uma recuperação mais efetiva e rápida dos pacientes. Em adição, será realizado um estudo prévio em indivíduos saudáveis, de modo a identificar, qual técnica de estimulação altera em maior magnitude a excitabilidade cortical e medular para depois investigar sua eficácia em otimizar o processo de reabilitação de pessoas com lesão medular.

Objetivo da Pesquisa:

Identificar a técnica de estimulação não invasiva do SNC que quando associada ao treino de marcha com suporte de peso corporal é mais eficiente em modificar a excitabilidade cortical, medular e percepção de dor de indivíduos saudáveis.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Bem delineados no projeto e no TCLE.

Continuação do Parecer: 1.053.059

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Considerando que a recuperação sensório-motora dos pacientes com lesão medular é atribuída a promoção de neuroplasticidade e que ambos, o treino de marcha com suporte de peso corporal e as estimulações não invasivas do SNC, induzem plasticidade, é possível que a associação das técnicas possam beneficiar os pacientes por amplificar seus efeitos terapêuticos. O benefício desta associação já foi demonstrado em outras populações de pacientes neurológicos (EDWARDS et al., 2009; YANG et al., 2013). No entanto, são escassos os ensaios clínicos controlados e randomizados reportados na literatura que apresentem esta evidência em pacientes com lesão medular.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados em qualidade e quantidade.

Recomendações:

Nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/CCS/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS N° 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo

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

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.740-600

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br

Comitê de Ética
em Pesquisa
Envolvendo
Seres Humanos

CEP - CCS - UFPE

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



Continuação do Parecer: 1.053.059

Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). O CEP/CCS/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

RECIFE, 07 de Maio de 2015

Assinado por:
Gisele Cristina Sena da Silva Pinho
(Coordenador)

ANEXO B – REGISTRO NO *CLINICAL TRIALS*

ClinicalTrials.gov PRS
Protocol Registration and Results System

ClinicalTrials.gov Protocol and Results Registration System (PRS) Receipt
Release Date: 01/15/2016

ClinicalTrials.gov ID: NCT02659826

Study Identification

Unique Protocol ID: NIS_CNSEXcitability

Brief Title: Non-invasive Stimulation on Central Nervous System Excitability

Official Title: Effects of Non-invasive Stimulation on Central Nervous System Excitability of Healthy Volunteers

Secondary IDs:

ANEXO D – ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO

Publicação científica: *Developmental Neurorehabilitation*, qualis B1 na área Medicina II, fator de impacto 1,58.

DEVELOPMENTAL
NEUROREHABILITATION

<http://informahealthcare.com/pdr>
ISSN: 1751-8423 (print), 1751-8431 (electronic)

Dev Neurorehabil, 2015; 18(1): 15–21
© 2015 Informa UK Ltd. DOI: 10.3109/17518423.2014.955213

informa
healthcare

SUBJECT REVIEWS

Accuracy of the Alberta Infant Motor Scale (AIMS) to detect developmental delay of gross motor skills in preterm infants: A systematic review

Plínio Luna de Albuquerque¹, Andrea Lemos², Miriam Queiroz de Farias Guerra¹, & Sophie Helena Eickmann³

¹Post-Graduate Programme in Child and Adolescent Health, ²Department of Physical Therapy, and ³Department of Maternal and Child Health, Federal University of Pernambuco, Recife, PE, Brazil

Abstract

Objective: To assess, through a systematic review, the ability of Alberta Infant Motor Scale (AIMS) to diagnose delayed motor development in preterm infants. **Methods:** Systematic searches identified five studies meeting inclusion criteria. These studies were evaluated in terms of: participants' characteristics, main results and risk of bias. The risk of bias was assessed with the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies – second edition (QUADAS-2). **Results:** All five studies included a high risk of bias in at least one of the assessed fields. The most frequent biases included were presented in patient selection and lost follow up. All studies used the Pearson correlation coefficient to assess the diagnostic capability of the Alberta Infant Motor Scale. None of the assessed studies used psychometric measures to analyze the data. **Conclusion:** Given the evidence, the research supporting the ability of Alberta Infant Motor Scale to diagnose delayed motor development in preterm infants presents limitations. Further studies are suggested in order to avoid the above-mentioned biases to assess the Alberta Infant Motor Scale accuracy in preterm babies.

Keywords

Alberta Infant Motor Scale, preterm, reliability, systematic review, validation tests

History

Received 31 January 2014
Revised 31 July 2014
Accepted 12 August 2014
Published online 30 September 2014

ANEXO E – ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO

Publicação científica: *Developmental Neurorehabilitation*, qualis B1 na área Medicina II, fator de impacto 1,58.

DEVELOPMENTAL NEUROREHABILITATION
<https://doi.org/10.1080/17518423.2017.1323974>



ORIGINAL ARTICLE



Concurrent validity of the Alberta Infant Motor Scale to detect delayed gross motor development in preterm infants: A comparative study with the Bayley III

Plínio Luna de Albuquerque^{a,b}, Miriam Queiroz de Farias Guerra^c, Marília de Carvalho Lima^d, and Sophie Helena Eickmann^d

^aDepartment of Physical Therapy, Centro Universitário Tabosa de Almeida–ASCES/UNITA, Recife, Brazil; ^bProgramme in Neuropsychiatry and Behavioural Sciences, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil; ^cDepartment of Occupational Therapy, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil; ^dDepartment of Maternal and Child Health, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brazil

ABSTRACT

Objective: To investigate the concurrent validity of AIMS in relation to the gross motor subtest of the Bayley Scale III/GM in preterm infants. **Methods:** A total of 159 gross motor development assessments were performed with the AIMS and Bayley-III/GM. Linear regression was used to assess the correlation between AIMS and Bayley-III/GM scores. The intra-class correlation coefficient (ICC) and the Bland-Altman plot were used to analyze intra- and inter-rater reliability. **Results:** There was a prevalence of delayed gross motor development of 20.8% according to the Bayley-III/GM, and 11.9% for the 5th percentile and 21.4% for the 10th percentile of AIMS. A good correlation of AIMS with Bayley-III/GM scores and intra- and inter-rater reliability was encountered in this study. **Conclusion:** AIMS proved very capable of detecting delayed gross motor development in preterm infants when compared with the Bayley-III/GM. The 10th percentile of AIMS provided the best combination of indicators, with greater specificity.

ARTICLE HISTORY

Received 6 November 2016
 Revised 14 February 2017
 Accepted 25 April 2017

KEYWORDS

Alberta infant motor scale
 Child development;
 developmental assessment;
 premature infant

Introduction

Preterm infants present variations in their trajectory of acquiring motor skills when compared to children born at term. Such variations are attributed to their exposure to the extrauterine environment during a period of cerebral immaturity.^{1,2} In order to differentiate these variations from

Although scales considered gold standard provide more accurate assessments, their use in routine health services requires high costs, standardized training for testers and long application periods.¹ On the other hand, screening tests, while not recommended for providing a definitive diagnosis of delay, indicate which children should be subjected to more careful assessment and may be used during longitudinal

ANEXO F – ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO

Publicação científica: *Revista Conscientiae e Saúde*

DOI:10.5340/Conscientiae.v18n2.4936 Recebido em 7 de set. 2017 / aprovado em 30 jun. 2017

Efeito da hidroterapia no condicionamento cardiovascular e na qualidade de vida de pacientes após acidente vascular encefálico

Effects of hydrotherapy on the endurance and quality of life in stroke survivors

Martília Ramos Dantas Vieira da Costa¹; Regina Celi de Lima²; Clarissa Pessoa Lopes³; Lívia Shirahige⁴; Plínio Luna Albuquerque⁵

¹Psicoterapeuta graduada pelo Centro Universitário Taboas de Almeida - ASCES/UNTA, Caruaru, PE - Brasil.
²Psicoterapeuta pós-graduada em Psicoterapia Aquática pelo Centro de Estudos e Pesquisas em Regulação, Atenção - CERPA, psicóloga da Clínica Escola de Fisioterapia do Centro Universitário Taboas de Almeida - ASCES/UNTA, Caruaru, PE - Brasil.
³Psicoterapeuta, Mestre em Fisioterapia pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE e doutoranda em Fisiocinética pelo Programa de Pós-graduação em Neurociências e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife, PE - Brasil.
⁴Psicoterapeuta, Mestranda em Saúde da Criança e da Adolescência pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, doutoranda em Neurociências pelo Programa de Pós-graduação em Neurociências e Ciências do Comportamento da UFPE, Docente do Departamento de Fisioterapia do Centro Universitário Taboas de Almeida - ASCES/UNTA, Caruaru, PE - Brasil.
⁵Psicólogo, Mestre em Saúde da Criança e da Adolescência pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, doutoranda em Neurociências pelo Programa de Pós-graduação em Neurociências e Ciências do Comportamento da UFPE, Docente do Departamento de Fisioterapia do Centro Universitário Taboas de Almeida - ASCES/UNTA, Caruaru, PE - Brasil.

Endereço para Correspondência:
 Plínio Luna Albuquerque
 Centro Universitário Taboas de Almeida - ASCES/
 UNTA, Campus I, Departamento de Fisioterapia,
 Av. Portugal, 394, Bairro Universitário,
 55061-400 - Caruaru, PE, Brasil
 plinoluna@untal.com

Resumo
Introdução: os efeitos do tratamento cardiovascular são potencializados quando realizados na piscina terapêutica devido às propriedades físicas da água. **Objetivo:** avaliar os efeitos de um protocolo de hidroterapia na qualidade de vida e no condicionamento cardiovascular de pacientes pós-AVE. **Métodos:** dez pacientes foram divididos nos grupos controle (exposto ao protocolo de exercícios no solo) e experimental (submetidos a 10 sessões de hidroterapia). As medidas para frequência cardíaca e respiratória, o número de voltas, saturação de oxigênio durante o teste de caminhada de seis minutos e qualidade de vida segundo a escala EQVE-AVE, foram avaliadas antes e após o programa de atividades. **Resultados:** houve um aumento expressivo da quantidade de voltas [12,80 ± 2,78 (p=0,01)] em ambos os grupos e dos escores para a qualidade de vida [196,20 ± 42,92 (p=0,046)] apenas no grupo experimental em relação a condição inicial. **Conclusões:** o protocolo de hidroterapia promoveu os mesmos efeitos do treinamento no solo sobre o condicionamento cardiovascular, no entanto, foi capaz de promover um aumento dos escores para qualidade de vida.
Descritores: Acidente vascular cerebral; Hidroterapia; Qualidade de vida; Resistência física.

Abstract
Introduction: Cardiovascular training programs effects are extended when performed in the therapeutic pool due to physical properties of the water. **Objective:** To evaluate the effects of a hydrotherapy protocol on the quality of life and endurance in stroke survivors. **Methods:** ten stroke survivors were divided into two groups: control (exposed to a floor exercise protocol) and experimental (underwent to 10 sessions of hydrotherapy). Heart and respiratory rate and oxygen saturation were assessed during the six-minute walk test. Additionally, the number of turns and stroke specific quality of life scale (SS-QOL) were assessed before and after the exercise protocols. **Results:** there was a significant increase in the number of turns [12.80 ± 2.78 (p = 0.01)] in both groups and in the quality of life scores [196.20 ± 42.92 (p = 0.046)] only after hydrotherapy protocol when compared to the baseline condition. **Conclusions:** the hydrotherapy protocol promoted the same benefits of the floor exercise's protocol on the endurance, however, it increased the quality of life scores.
Key words: Stroke; Hydrotherapy; Quality of Life; Physical endurance.

Conscientiae Books 357 103229-011 259

ANEXO G – ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO

Submissão de artigo: Jornal de Pediatria, qualis B1 em Medicina II, fator de impacto 2,081.

Jornal de **Pediatria**  Plínio Luna Albuquerque |

[Home](#) [Reports](#)

✓ Enter Manuscript Information
✓ Upload Files
✓ Provide Additional Information
✓ Review & Submit

Thank you for submitting

Your submission can be viewed on your [Homepage](#) from where you can track its status.

ANEXO H – ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO

Publicação científica: *Anais em congressos internacionais*

VIII- Simpósio internacional em neuromodulação – São Paulo

Effects of trans-spinal direct current stimulation associated with treadmill exercise on cortical excitability in healthy subjects.

FONTES, L.A.M.¹; ALBUQUERQUE, P.L.¹; CAMPÊLO, M.¹; BRITO, R.M.¹; MENDONÇA, T.¹; MONTE-SILVA, K.K.¹-
Annals of VIII International Symposium on Neuromodulation, 2016, v1, p1-35. ISBN:978-85-65408-05-9

¹Applied Neuroscience Laboratory, Department of Physical Therapy, Federal University of Pernambuco, UFPE

ABSTRACT

Objective: To examine which montage of trans-spinal direct current stimulation (tsDCS) associated with physical exercise on the treadmill (PET) is more effective in modifying the corticospinal excitability in healthy individuals.

Methods: Nine healthy subjects underwent a sham-controlled, randomized, triple-blind crossover study to receive anodal, cathodal or sham tsDCS (2mA, 20min) followed by 20 min of PET at moderate intensity. An electrode was placed between the spinous process of T11 and T12 and the other on right shoulder. Transcranial magnetic stimulation-elicited motor-evoked potentials (MEP) from the right first dorsal interosseous muscle were recorded before and immediately after each session.

Results: Compared to sham condition, we found a significant decrease of corticospinal excitability after cathodal tsDCS/PET (mean difference = -0.34, SD= 0.39, p= 0.029) and a tendency in decreasing the excitability after anodal tsDCS/PET (mean difference=-0.36 SD= 0.48 p=0.056).

Conclusion: These data suggest that application of a direct current over spinal cord combined with PET can be a potential tool for the treatment of patients with alterations of corticospinal excitability.

ANEXO I – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO



Promovendo a Troca de Conhecimento em Medicina e Saúde Pública

São Paulo, 20 de Setembro de 2016

VIII SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM NEUROMODULAÇÃO

CERTIFICADO

Certifico que o resumo intitulado:

“Effects of trans-spinal direct current stimulation associated with treadmill exercise on cortical excitability in healthy subjects”

foi aceito e apresentado sob a forma de **PÔSTER** durante o *VIII Simpósio Internacional em Neuromodulação*, ocorrido nos dias 29 a 31 de Agosto de 2016 em São Paulo/SP, tendo como autores:

Fontes, L.A.M.

Albuquerque, P. L.

Campêlo, M.

Brito, R. M.

Mendonça, T.

Monte-Silva K.K.

Co-Diretor do Simpósio

Felipe Fregni, MD, PhD, MPH

Director do Spaulding Neuromodulation Center,
Spaulding Rehabilitation Hospital/MGH/Harvard Medical School - Boston
Fundador e Conselheiro Educacional, Instituto Scala

Instituto SCALA

Avenida das Nações Unidas, 14171 – 15º andar | São Paulo - SP
[11] 3568-2151 | contato@institutoscala.com.br | www.institutoscala.com.br

ANEXO J – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO



Promovendo a Troca de Conhecimento em Medicina e Saúde Pública

São Paulo, 20 de Setembro de 2016

VIII SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM NEUROMODULAÇÃO

CERTIFICADO

Certifico que o resumo intitulado:

"Anodal trans-spinal direct current stimulation associated with treadmill exercise modifies the spinal cord excitability of healthy subjects"

foi aceito e apresentado sob a forma de **PÔSTER** durante o *VIII Simpósio Internacional em Neuromodulação*, ocorrido nos dias 29 a 31 de Agosto de 2016 em São Paulo/SP, tendo como autores:

Brito, R. M.
Mendonça, T.
Albuquerque, P.L.
Campêlo, M.
Pinho, M. C.
Fontes, L.A.M.
Monte-Silva K.K.



Co-Diretor do Simpósio
Felipe Fregni, MD, PhD, MPH
Diretor do Spaulding Neuromodulation Center,
Spaulding Rehabilitation Hospital/MGH/Harvard Medical School - Boston
Fundador e Conselheiro Educacional, Instituto Scala

Instituto SCALA
Avenida das Nações Unidas, 14171 - 15º andar | São Paulo - SP
[11] 3568-2151 | contato@institutoscala.com.br | www.institutoscala.com.br

ANEXO K – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO



ANEXO L – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO



31 de agosto a 03 de setembro de 2016
CENTRO DE CONVENÇÕES DE PERNAMBUCO - RECIFE

CERTIFICADO



Certificamos que o trabalho intitulado **Atividade Motora como Preditora para Capacidade de Resolução de Problemas em Crianças** sob autoria de **Natália Ferraz de Araújo Malkes, Bruna Thays Santana de Araújo, Plínio Luna de Albuquerque** recebeu menção honrosa pela **1ª COLOCAÇÃO** na modalidade de apresentação **PÔSTER** durante o XXI Congresso Brasileiro de Fisioterapia, realizado no período de 31 de Agosto a 03 de Setembro, no Centro de Convenções de Pernambuco.

Recife, 03 de setembro de 2016.



ANEXO M – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO



PLINIO LUNA DE ALBUQUERQUE

Integrou a Comissão Organizadora do 4º Congresso Brasileiro de Fisioterapia Neurofuncional – 4º COBRAFIN, realizado de 7 a 9 de setembro na cidade de Recife, Pernambuco.

Recife, 09 de setembro de 2016.


Dra. Solange Canavarro Ferreira
PRESIDENTE DA ABRAFIN


Dra. Katia Monte-Silva
PRESIDENTE DO 4º COBRAFIN



ANEXO N – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO



ANEXO O – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO



Promovendo a Troca de Conhecimento em Medicina e Saúde Pública

São Paulo, 20 de Setembro de 2016

VIII SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM NEUROMODULAÇÃO

CERTIFICADO

Certifico que o resumo intitulado:

"Anodal trans-spinal direct current stimulation associated with treadmill exercise modifies the spinal cord excitability of healthy subjects"

foi aceito e apresentado sob a forma de **PÔSTER** durante o *VIII Simpósio Internacional em Neuromodulação*, ocorrido nos dias 29 a 31 de Agosto de 2016 em São Paulo/SP, tendo como autores:

Brito, R. M.

Mendonça, T.

Albuquerque, P.L.

Campêlo, M.

Pinho, M. C.

Fontes, L.A.M.

Monte-Silva K.K.

Co-Diretor do Simpósio

Felipe Fregni, MD, PhD, MPH

Director do Spaulding Neuromodulation Center,
Spaulding Rehabilitation Hospital/MGH/Harvard Medical School - Boston
Fundador e Conselheiro Educacional, Instituto Scala

Instituto SCALA

Avenida das Nações Unidas, 14171 – 15º andar | São Paulo - SP
[11] 3568-2151 | contato@institutoscala.com.br | www.institutoscala.com.br

ANEXO P – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO



**INSTITUTO
IS
SCALA**

Promovendo a Troca de Conhecimento em Medicina e Saúde Pública

São Paulo, 20 de Setembro de 2016

VIII SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM NEUROMODULAÇÃO

CERTIFICADO

Certifico que o resumo intitulado:

“Effects of trans-spinal direct current stimulation associated with treadmill exercise on cortical excitability in healthy subjects”

foi aceito e apresentado sob a forma de **PÔSTER** durante o *VIII Simpósio Internacional em Neuromodulação*, ocorrido nos dias 29 a 31 de Agosto de 2016 em São Paulo/SP, tendo como autores:

Fontes, L.A.M.

Albuquerque, P. L.

Campêlo, M.

Brito, R. M.

Mendonça, T.

Monte-Silva K.K.



Co-Diretor do Simpósio
Felipe Fregni, MD, PhD, MPH
Diretor do Spaulding Neurostimulation Center,
Spaulding Rehabilitation Hospital/MGH/Harvard Medical School - Boston
Fundador e Conselheiro Educacional, Instituto Scala

Instituto SCALA
Avenida das Nações Unidas, 14171 – 15º andar | São Paulo - SP
(11) 3568-2151 | contato@institutoscala.com.br | www.institutoscala.com.br

ANEXO Q – ATIVIDADES TÉCNICAS ATIVIDADES TÉCNICAS E CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS REALIZADAS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO

