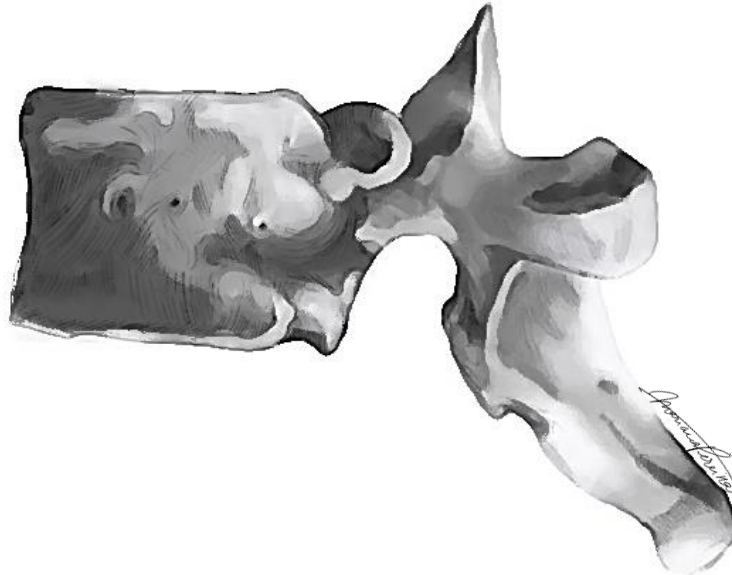


UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina



**ESTIMULAÇÃO ESPINHAL TRANSCUTÂNEA POR CORRENTE DIRECTA NA  
MODULAÇÃO DA EXCITABILIDADE DO SISTEMA MOTOR**

Mariana Fernandes Alves Pereira

**Orientação:** Professor Doutor Mamede de Carvalho, Instituto de Medicina Molecular

Dissertação especialmente elaborada para obtenção do grau de Mestre em Neurociências

Lisboa | 2016



**A impressão desta dissertação foi aprovada pelo Conselho Científico da Faculdade de Medicina de Lisboa em reunião de 20 de Setembro de 2016.**



**UNIVERSIDADE DE LISBOA**

**Faculdade de Medicina**



**ESTIMULAÇÃO ESPINHAL TRANSCUTÂNEA POR CORRENTE DIRECTA NA  
MODULAÇÃO DA EXCITABILIDADE DO SISTEMA MOTOR**

Mariana Fernandes Alves Pereira

**Orientação:** Professor Doutor Mamede de Carvalho, Instituto de Medicina Molecular

Proposta de tese para obtenção do grau de mestre em Neurociências

Todas as afirmações contidas neste trabalho são da exclusiva responsabilidade da candidata, não cabendo à Faculdade de Medicina de Lisboa qualquer responsabilidade

**Lisboa | 2016**



***“ Wer einst fliegen lernen will, der muss erst stehen und gehen und laufen und klettern und tanzen lernen: - man erfliegt das fliegen nicht”***  
(por Friedrich Nietzsche)

(Aquele que quer aprender a voar um dia precisa primeiro aprender a ficar de pé, caminhar, correr, escalar e dançar; ninguém consegue voar só aprendendo sobre o vôo.)

***"I'm not the one who knows, but the one who seeks."***  
(por Hermann Hesse)





## RESUMO

---

**Introdução:** A medula espinhal é uma estrutura complexa, que contém circuitos neuronais próprios, complexos, que estão sob a influência de centros superiores, mas que mantêm relevante autonomia, sendo que os mesmos estão envolvidos em diversos processos patológicos. Recentemente, tem surgido um elevado interesse no estudo de técnicas que possam modular a resposta dos circuitos medulares, em particular pela aplicação de correntes percutâneas de baixa intensidade aplicadas em períodos temporais prolongados, a estimulação transcutânea por corrente directa (tsDCS). Estes estudos seguem historicamente a extensa investigação no uso destas mesmas correntes na modulação da resposta cortical, o que tem sido explorado em diversas condições clínicas, desde a reabilitação às doenças psiquiátricas, incorporando as doenças do movimento e a epilepsia - a estimulação transcraniana por corrente directa (tDCS). Sendo a tsDCS uma técnica recente compreende-se que na literatura os resultados publicados sejam muito diversos na metodologia e nos resultados, embora promissores quanto ao potencial desta técnica na modulação das complexas respostas fisiológicas da medula espinhal.

**Objectivo:** Dado ser a tsDCS uma técnica recente e os resultados já publicados inconsistentes, o nosso principal objectivo foi o de verificar o impacto desta técnica nas respostas motoras medulares, pela aplicação de uma metodologia rigorosa, em particular, evitando viés na observação dos resultados por parte do investigador. Para tal, decidimos pela aplicação da tsDCS na região lombar, uma topografia menos investigada.

**Metodologia:** Realizámos um estudo *cross-over*, duplamente cego e pseudo-randomizado, em que foi aplicado tsDCS durante 15 minutos (Sham, anódica e catódica) distribuída ao nível de L2 (2.5 mA, 15 min, 0.001 A/cm<sup>2</sup> e carga total de 90 C/cm<sup>2</sup>) em 15 sujeitos saudáveis. Por estimulação distal do nervo tibial posterior direito com captação da resposta motora no músculo abductor hallucis e por estimulação proximal do nervo tibial posterior direito com captação da resposta motora no músculo solhar foram estudados os seguintes parâmetros: amplitude e latência da onda M; latências (mínima, média e cronodispersão), frequência e amplitudes das Ondas F; e limiar, razão H/M, latência e curva de recrutamento do reflexo H. Por estimulação magnética transcraniana da área motora do membro inferior, foram estudadas: o limiar, as amplitudes motoras (razão MEP/M), e latências das respostas com captação no abductor hallucis direito; e o período silêncio cortical (com o sinal rectificado e não-rectificado) da resposta no músculo tibial anterior direito. Foi ainda avaliada a resposta simpática cutânea plantar direita obtida por estimulação eléctrica súbita, intensa e distal quer no nervo tibial posterior esquerdo quer no nervo mediano esquerdo, com registo da amplitude e da latência. Foram aplicados métodos estatísticos paramétricos e não-paramétricos com correcção de Bonferroni para comparações múltiplas, um valor de  $p < 0.05$  foi considerado como significativo.

**Resultados:** A latência média das ondas F aumentou significativamente após qualquer das intervenções, incluindo a placebo, sem alteração na cronodispersão. Nenhum dos restantes parametros se modificou significativamente após alguma das intervenções ( $p > 0.05$  após correcção de Bonferroni).

**Discussão:** O observado aumento das latências das Ondas F associa-se, provavelmente à imobilidade de cerca de 90 minutos que decorria para os sujeitos durante o protocolo experimental. No entanto não podemos excluir algum efeito da redução na temperatura cutânea, cerca de 1-2°C. Relativamente à estabilidade dos restantes parâmetros, acreditamos que possa derivar das características do protocolo experimental utilizado em relação às características fisiológicas do sistema motor.

**Conclusão:** Concluimos assim que o protocolo utilizado de tsDCS aplicado, de forma a modular os neurónios motores lombo-sagrados, não condiciona alteração da resposta aos estímulos empregues. Futuros estudos requerem protocolos sólidos sustentados em modelos computacionais.

**Palavras-chave:** tsDCS, medula espinal, modulação, neurofisiologia

## ABSTRACT

---

**Introduction:** The spinal cord is a complex structure that contains its own neuronal circuits, also complex, under the influence of higher centers. These circuits keep a relevant autonomy and can be involved in many different pathological conditions. Recently, has been growing the interest in the study of technicals that can modulate the output of the spinal circuits, in particular through the application of percutaneous currents of lower intensity delivered over long time – transcutaneous direct current stimulation (tsDCS). These studies follow the extensive research about the use of direct current in cortical excitability modulation – transcranial direct current stimulation (tDCS). This technique has been explored in rehabilitation and in many clinical conditions, like epilepsy, psychiatric and movement illness. Being the tsDCS a new tool, there are different methods and results in literature, but promising about the potential modulation of physiological outputs of the spinal cord.

**Aim:** The primordial aim of this study was to observe the impact of this tool in the motor spinal responses by rigorous methodology, due double blind investigation. We decided to deliver tsDCS on lumbar region, a topography less investigated.

**Methods:** To further explore tsDCS-induced changes in motor spinal responses, we examined, in a double-blind crossover pseudo-randomized study, during which tsDCS was delivered for 15 minutes (anodal, cathodal, and sham) at the L2 level (2.5 mA, 15 min, 0.001 A/cm<sup>2</sup>; 90 C/cm<sup>2</sup>) in 15 healthy subjects. Through distal stimulation of the right posterior tibial nerve, with the recorded motor response in the abductor hallucis muscle and by proximal stimulation of the same nerve with recorded motor response of the soleus muscle, were study the following parameters: M-wave amplitude and latency; F-Wave latency (minimum, mean and chronodispersion), frequency and amplitude of the F- Wave; H-reflex threshold, ratio H/M, latency and the stimulus-response curves of the soleus H-reflex, before and after the current offset.

With transcranial magnetic stimulation on motor area of the lower limb, were study: the motor threshold, the motor amplitude (ratio MEP/M) and the latency of the responses at right abductor hallucis; and the silence cortical period (rectified and non-rectified) of the right anterior tibial muscle response, before and after the current offset. It was also measured the sympathetic sudomotor response plantar of the right side the sympathetic right plantar cutaneous response achieved by sudden, intense and distal electrical stimulation - either in the left posterior tibial nerve, either in the left median nerve - with recording of the latency and amplitude. Were applied parametrics and non-parametrics statistics methods with Bonferroni correction for multiples comparisons. In all tests, statistical significance was assumed if  $p < 0.05$ .

**Results:** The mean latency of the F wave increased meaningly after the three conditions (sham, anodic and cathodic), without differences in chronodispersion. There were no other differences after the three conditions of stimulation. ( $p > 0.05$  after Bonferroni correction)

**Discussion:** The increment of the latency in the F wave is probably due to the 90 minutes where the subjects were mobilized during the experimental protocol. However we cannot

exclude any effect by cutaneous temperature decrement, about 1 to 2°C. In relation to stability of the remaining neurophysiologic parameters, we believe that they can be due to the experimental protocol features, in relation to physiologic characteristics of the motor system.

**Conclusion:** We concluded that the protocol applied, using tsDCS to modulate the lumbar-sacral motor neuron, doesn't change the response of delivered stimulus. Future studies should have more solid protocols, sustained in computational models of the current density distribution.

**Key words:** tsDCS, spinal cord, modulation, neurophysiology

# ÍNDICE

---

<b>Lista de abreviaturas</b>	
<b>Lista de imagens</b>	<b>11</b>
<b>Lista de tabelas</b>	<b>12</b>
	<b>13</b>
<b>1  INTRODUÇÃO</b>	
<b>1.1  O neurónio – Anatomo-fisiologia</b>	<b>14-19</b>
- O neurónio e as suas estruturas	
- A sinapse	
- Sistema inotrópico	
- Sistema neuromodulador nos neurónios espinais	
<b>1.2  A via Motora</b>	<b>20-24</b>
- Unidade motora de Sherrington	
- A via motora - Do córtex ao nervo periférico	
- Medula espinhal – Macro-morfologia e relação anatómica	
<b>1.3  Estimulação por Corrente Directa</b>	<b>25-35</b>
- Contextualização histórica	
- tDCS e tsDCS: Substrato Fisiológico	
- tsDCS: mecanismos acção no sistema motor	
- Modelos computacionais	
- Segurança e tolerabilidade	
- Interesse clínico	
- Aplicabilidade e estudos existentes	
<b>2  OJECTIVO DE ESTUDO</b>	<b>36</b>
<b>3  METODOLOGIA</b>	<b>37-50</b>
<b>3.1  Desenho do Estudo</b>	<b>37</b>
<b>3.2  Amostra</b>	<b>37</b>
<b>3.3  Considerações Éticas</b>	<b>37</b>
<b>3.4  Equipa e Local</b>	<b>38</b>
<b>3.5  Material e condições de registo</b>	<b>39</b>
<b>3.6  Intervenção/Protocolo Experimental de estimulação – sessões de tsDCS</b>	<b>41</b>
<b>3.7  Métodos de avaliação – contributo neurofisiológico</b>	<b>43-51</b>
- Onda M	
- Onda F	
- Reflexo H	
- Respostas simpático-cutâneas (SSR)	
- Respostas obtidas por TMS	
- MEP	
- Período de silêncio	
<b>3.8  Análise estatística</b>	<b>52</b>

<b>4  RESULTADOS</b>	<b>53-59</b>
<b>5  DISCUSSAO</b>	<b>60-74</b>
<b>5.1  tsDCS – Efeitos nas técnicas neurofisiológicas</b>	<b>60-69</b>
- Onda F	
- Reflexo H	
- SSR	
- Estimulação magnética transcraniana	
- Período de silêncio	
<b>5.2  tsDCS – Parâmetros metodológicos</b>	<b>70-74</b>
- Factores anatomo-fisiológicos	
- Montagem	
- Distância e conductância dos tecidos	
- Ordem de estimulação	
<b>6  CONCLUSÃO</b>	<b>75-76</b>
<b>7  BIBLIOGRAFIA</b>	<b>77-85</b>
<b>8  AGRADECIMENTOS</b>	<b>86-87</b>
<b>9  ANEXOS</b>	<b>89</b>

## LISTAS ABREVIATURAS

---

**AH**- Músculo Abductor do Hallux  
**AHP**- After Hiperpolarization  
**CSP**- Período de silêncio Cortical  
**EMG**- Electromiografia  
**IFCN**- International Federation Clinical Neurophysiology  
**MN**- Motoneurónio  
**MT**- Motor Threshold  
**NSE**- Serum Neurone Specific Enolase  
**CMAP/PAMC**- Potencial de Acção Muscular Composto  
**PEM (MEP)**- Potencial Evocado Motor  
**PICs** - *persistent inward currents*  
**PSc**- Período de Silêncio Cortical  
**SSR**- Respostas Simpatico-Cutâneas  
**CMCT/ TCMC**- Tempo de Condução Motora Central  
**TCMP**- Tempo de Condução Motora Periférica  
**TES**- Estimulação Electrica Transcraniana  
**TMS**- Transcranial Magnetic Stimulation  
**TMS**- Estimulação magnética transcraniana  
**tsDCS**- Estimulação transcutânea por corrente directa

## LISTAS DE IMAGENS

---

<b>Figura 1.1</b> – Colateral axonal recorrente	<b>16</b>
<b>Figura 1.2</b> – Efeito das PICs	<b>20</b>
<b>Figura 1.3</b> – Excitabilidade do motoneurónio	<b>21</b>
<b>Figura 1.4</b> – Junção Neuromuscular	<b>22</b>
<b>Figura 1.5</b> – Lámina Rexed	<b>24</b>
<b>Figura 1.6</b> – Medula Espinhal	<b>25</b>
<b>Figura 3.1</b> – Cronograma	<b>40</b>
<b>Figura 3.2</b> – Montagem de tsDCS	<b>43</b>
<b>Figura 3.3</b> – Fórmula de densidade de corrente	<b>44</b>
<b>Figura 3.4</b> – Fórmula de carga total	<b>44</b>
<b>Figura 3.5</b> – Resumo de protocolo de registo e estimulação	<b>46</b>
<b>Figura 3.6</b> – Onda F	<b>47</b>
<b>Figura 3.7</b> – Montagem da onda F	<b>48</b>
<b>Figura 3.8</b> – Reflexo H	<b>49</b>
<b>Figura 3.9</b> – SSR	<b>50</b>
<b>Figura 3.10</b> – TMS	<b>51</b>
<b>Figura 3.11</b> – Fórmula do CMCT	<b>52</b>
<b>Figura 3.12</b> – PEM e PSc	<b>53</b>
<b>Figura 3.13</b> – Exemplo de período de silêncio rectificado	<b>53</b>
<b>Figura 4.1</b> – Latência da onda M	<b>55</b>
<b>Figura 4.2</b> – Latência da onda F	<b>56</b>
<b>Figura 4.3</b> – Curva de recrutamento do reflexo H e onda M	<b>58</b>
<b>Figura 4.4</b> – Latência do PEM	<b>59</b>
<b>Figura 4.5</b> – Período de silêncio cortical	<b>60</b>



## LISTAS DE TABELAS

---

<b>Tabela 1.1</b> – Valores de conductância por estrutura	<b>29</b>
<b>Tabela 1.2</b> – Resumo dos artigos sobre a temática tsDCS	<b>35-37</b>
<b>Tabela 4.1</b> – Análise exploratória da latência mínima, média da onda F antes e após estimulação tsDC	<b>57</b>
<b>Tabela 4.2</b> – Latência média do PEM antes e após estimulação tsDC	<b>60</b>
<b>Tabela 4.3</b> – Latência e amplitude média das respostas SSR	<b>61</b>



## 1. | INTRODUÇÃO

A pertinência e brevidade dos conteúdos deste capítulo permitirá a compreensão e a análise das hipóteses apresentadas na discussão da presente monografia.

### 1.1 | O NEURÓNIO – ANATOMO-FISIOLOGIA

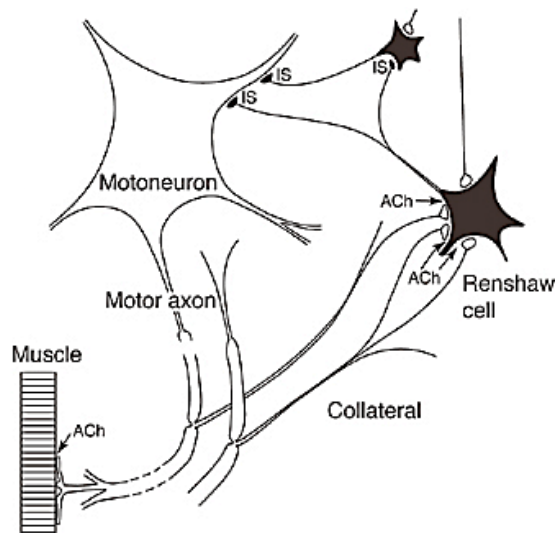
#### 1.1.1 | O neurónio e as suas estruturas

O neurónio apresenta dois processos neuronais distintos, as dendrites e o axónio, classificados segundo distintos critérios morfológicos, ultra-estruturais, bioquímicos e funcionais. (Hammond, 2012)

As dendrites constituem a principal área receptiva dos neurónios. (Hammond, 2012; Kandel, Schwartz, & Jessell, 2000). A sua morfologia e diâmetro irregular permitem aumentar a área de superfície de recepção e conduzem, posteriormente, o impulso nervoso ao corpo celular (Snell, 2010).

O axónio é, em geral, um longo prolongamento da célula, que se estende para além do cone axonal, seu segmento inicial. Esta estrutura de morfologia tubular tem a função de conduzir a informação eferente (Snell, 2010). Ao longo deste processo podem surgir uma ou várias ramificações designadas de colaterais do axónio. Um exemplo de um ramo axonal colateral é aquele que contacta com um interneurónio inibitório que sinapsa com o neurónio motor que origina o axónio constituindo o circuito de Renshaw. Por esta razão é designada de colateral axonal recorrente (figura 1).

**Figura 1.1 – Colateral axonal recorrente**



**Legenda – A)** Desenho esquemático da relação motoneurónio – célula Renshaw. A colateral axonal recorrente apresenta uma relação sináptica excitatória com o interneurónio inibitório (célula de Renshaw). Este interneurónio vai inibir o motoneurónio que deu origem à colateral axonal. IS – sinapse inibitória (fonte: imagem obtida em [http://ptgmedia.pearsoncmg.com/images/chap1\\_9780137050680/elementLinks/fig03.jpg](http://ptgmedia.pearsoncmg.com/images/chap1_9780137050680/elementLinks/fig03.jpg) )

### **1.1.2| O neurónio como célula polarizada**

A polarização dos neurónios deriva da própria morfologia celular, da constituição estrutural (organelos) e da distribuição não-homogénea das proteínas (Hammond, 2012). Esta diferente densidade e distribuição espacial das proteínas transmembrares (canais iónicos) permite criar um gradiente de concentração.

Para além dos neurónios existe outra uma classe de células no sistema nervoso, as células gliais. As células gliais não estão envolvidas directamente no processamento de informação (Kandel et al., 2000), mas a sua importância funcional é sustentada pelo conceito de sinapse tripartida (Araque, Parpura, Sanzgiri, & Haydon, 1999) actualmente actualizado para sinapse multi-partida (Verkhatsky & Nedergaard, 2014).

### **1.1.3| A sinapse**

*‘Les articulations ou contacts utiles et efficaces entre neurones ne s’effectuent qu’entre cylindre-axiles, collatérales ou terminales d’un neurone et les prolongements ou le corps cellulaire d’un autre neurone.’*

*Santiago Ramon y Cajal, 1888*

Esta descrição de Ramon y Cajal (1888) constitui a primeira proposta do fluxo de informação que ocorre entre o terminal axonal de um neurónio e as dendrites ou o soma de outro neurónio (Hammond, 2012), sendo mais tarde denominada como sinapse (Hammond, 2012), por Sherrington (1897). No SNC, as sinapses químicas são mais comuns (Snell, 2010), mas existem sinapses de outra natureza.

Estas zonas de comunicação estruturalmente especializadas são constituídas por 3 componentes, o elemento pré-sináptico (que contém proteínas especializadas na geração e propagação de potenciais de acção – canais voltagem dependentes- como a presença de moléculas específicas e organelos) e o pós-sináptico (que contém proteínas especializadas no reconhecimento de neurotransmissores, como os receptores iónicos ou acoplados a proteínas G). Estes dois componentes estão separados pelo terceiro componente – a fenda sináptica.

Em conjunto constituem a unidade fundamental, básica e não redutível da transmissão sináptica química (Hammond, 2012; Snell, 2010). Não ocorrem obrigatoriamente apenas entre neurónios, pois um dos elementos (pré ou pós-sináptico) pode ser constituído por uma célula não neuronal - muscular, sensitiva ou glandular (por exemplo, as glândulas écrinas) (Hammond, 2012).

#### **1.1.4| Sistema inotrópico**

Um sistema que opera pela abertura de canais iónicos mediado por neurotransmissores é designado por sistema inotrópico (C. J. Heckman, Mottram, Quinlan, Theiss, & Schuster, 2009).

Os *inputs* ionotrópicos geram correntes sinápticas pela libertação de neurotransmissores e posterior ligação aos canais activados por ligando, do elemento pós-sinápticos. Isto vai levar à abertura do poro iónico e permitir a entrada e saída de iões da célula pós-sináptica.

Assim, na presença de glutamato ocorre a despolarização da célula pós-sináptica, sendo gerado potenciais excitatórios pós-sináptico (EPSPs). Por outro lado, na presença de glicina e GABA são gerados potenciais inibitórios pós-sináptico (IPSPs), ou seja, a célula pós-sináptica vai ficar hiperpolarizada (Powers & Binder, 2003).

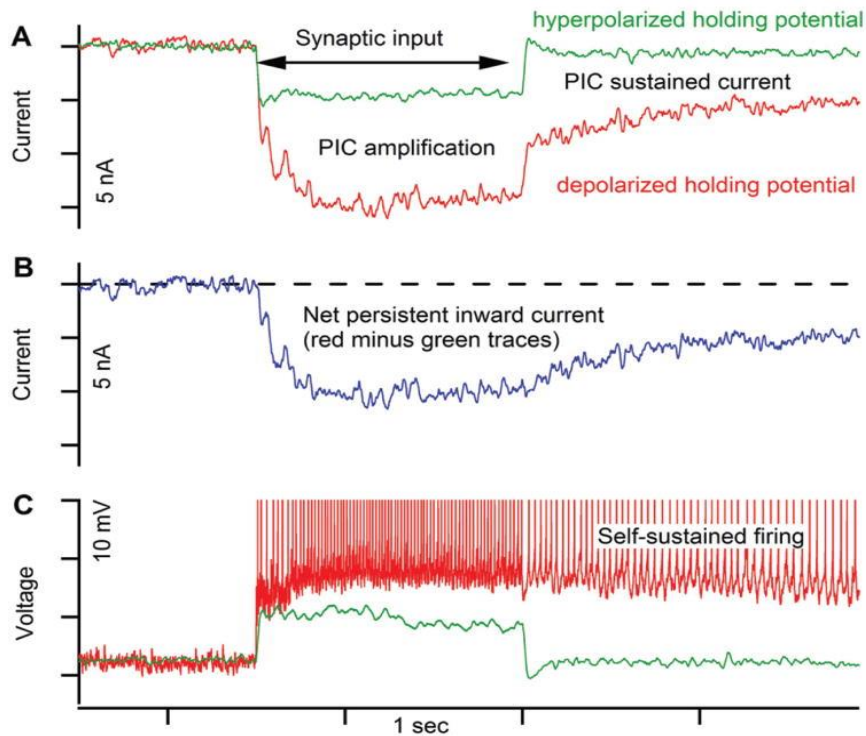
O exemplo clínico mais típico de um *input* iónico é o reflexo miotático. Por exemplo, o reflexo rotuliano consiste na resposta de contração muscular resultante do alongamento dos fusos musculares e consequente activação das fibras aferentes Ia quando é percutido o tendão rotuliano. O alongamento dos fusos activa as fibras Ia que geram a libertação de glutamato que se liga aos receptores dos neurónios motores medulares possibilitando a abertura dos canais iónicos, promovendo uma breve mas rápida despolarização dos motoneurónios (EPSPs) do músculo quadrícipite (músculo extensor) (Guyton, 2011; C. J. Heckman et al., 2009).

### **1.1.5| Efeitos do sistema neuromodulador nos neurónios medulares**

Actualmente, sabe-se que *inputs* neuromodulatórios podem alterar a excitabilidade do MN através da alteração da sua resposta ao *input* ionotrópico. Esta alteração decorre da activação de vias de sinalização intracelular que modificam as propriedades dos canais iónicos voltagem-dependentes (C. J. Heckman et al., 2009). Entre os vários neuromoduladores é conhecida a incontestável importância das monoaminas. Estudos em ratos onde foram aplicadas técnicas para eliminar monoaminas na medula espinal mostraram a supressão do padrão electromiográfico tónico (Kiehn, Erdal, Eken, & Bruhn, 1996). A projecção do sistema serotoninérgico (com origem no núcleo da Rafe) e do sistema noradrenérgico (com origem no *locus coeruleus*) na medula espinal ocorre de uma forma difusa e extensa, envolvendo vários níveis medulares. ( Heckman et al., 2009).

Uma das formas de amplificação do *input* sináptico pelo sistema neuromodulatório resulta do fenómeno conhecido como *persistent inward currents* (PICs) (Heckman, Gorassini, & Bennett, 2005). Estas correntes persistentes são geradas pela activação e posterior lenta inactivação de canais voltagem-dependentes de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$ , presentes nas dendrites dos MN ( Heckman, Johnson, Mottram, & Schuster, 2008). As PICs proporcionam uma excitação prolongada sempre que a membrana da célula é despolarizada ( Heckman et al., 2008). Assim sendo, as PICs podem aumentar a excitabilidade do MN necessária para níveis funcionais de excitação muscular (Nielsen., Crone., & Hultborn, 2007). O papel deste processo poderá ter maior relevância nos músculos posturais e da locomoção, reduzindo o necessário *input* das vias cortico-espinal (Elbasiouny & Mushahwar, 2007; Heckman et al., 2009). Assim, *inputs* de menor intensidade e duração seriam suficientes para uma activação prolongada dos MN. Interessantemente, a importância do PIC depende do tipo de motoneurónio (Lee & Heckman, 1998). Ou seja, unidades motoras do tipo S (S de “*slow*” relativamente à contração muscular, ou unidades de tipo I), apresentam baixo *threshold*, PICs prolongadas e um forte comportamento de bi-estabilidade. Por outro lado, os neurónios das unidades motoras do tipo FR (FR de “*fast and resistant*”, ou seja de contração rápida e resistentes à fadiga, ou tipo IIA) e FF (FF de “*fast and fatigable*”, ou seja de contração rápida e não-resistentes à fadiga, ou tipo IIB) têm maior limiar de excitabilidade e menor bi-estabilidade, e a amplificação do *input* pelo PIC tem menor duração, embora persista. No entanto, os efeitos neuromodulatórios da 5-HT (serotonina) e NE (norepinefrina ou noradrenalina) estão dependentes do tipo de célula. Assim, tem sido observada uma acção inibitória nos interneurónios do corno dorsal. Este dado parece enfatizar que os neuromoduladores podem ter efeitos inibitórios pré-sinápticos.

**Figura 1.2 – Efeito das PICs**



**Legenda:** Registos em motoneurónio do tipo S – Amplificação e prolongamento do *input* sináptico por acção da PIC dendrítica

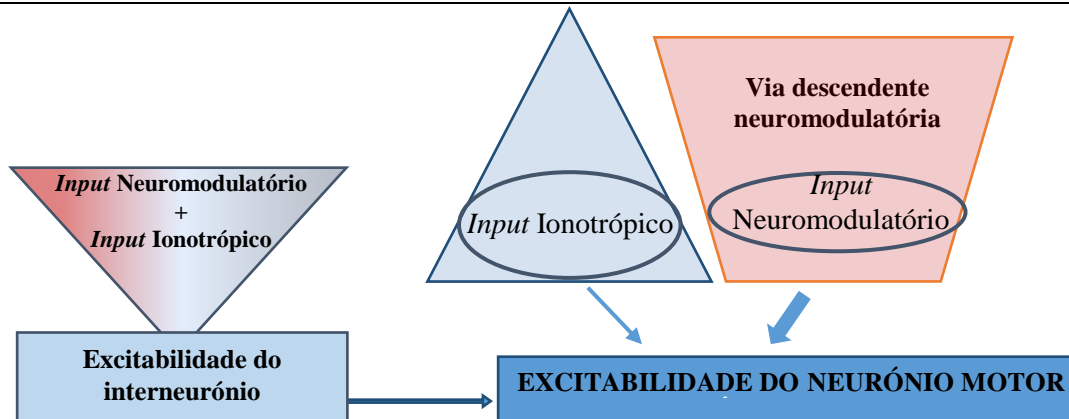
A) *Input* sináptico constante foi gerado pela activação de alta frequência de 1,5 segundos de origem ionotrópica monossináptica, os aférentes Ia dos fusos musculares. Traço verde – Holding potencial de hiperpolarização (-90 mV), este *input* produz uma corrente constante com início e fim abrupto. Traço vermelho – Holding potencial de despolarização (~-55 mV), o mesmo *input* é grandemente ampliado e prolongado pela PIC.

B) A diferença entre as correntes na figura A – Contribuição net da PIC dendrítica

C) Em condições *unclamped*, o mesmo *input* produz um potencial pós-sináptico excitatório sustentado (EPSP) a um nível de hiperpolarização (~-90 mV). Num estado de despolarização (-70 mV), o mesmo *input* evoca disparo intenso repetitivo seguido pelo disparo continuado auto-sustentado em menor nível quando o *input* é removido.

(Lee & Heckman, 1998)

**Figura 1.3 – Excitabilidade do motoneurónio**



**Legenda:** Desenho esquemático da modulação da excitabilidade do motoneurónio. O efeito do sistema neuromodulatório tem maior impacto que o *input* sináptico ionotrópico.

Em suma, a amplificação via PIC dendrítica e outros efeitos das monoaminas nos motoneurónios aumentam o ganho *input-output* do sistema motor periférico.



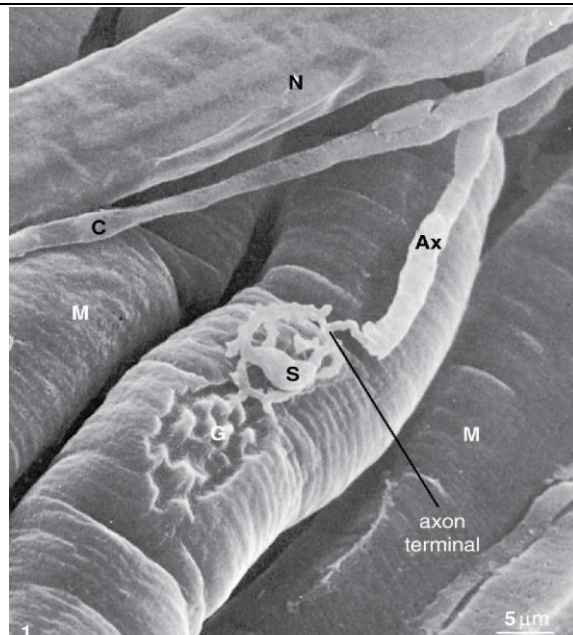
## 1.2| A VIA MOTORA

### 1.2.1| Unidade motora de Sherrington

O fluxo convergente de informação neuronal incitou Charles Sherrington em 1929, no seu artigo de título “*Some functional problems attaching to convergence*” a definir o termo já anteriormente empregue por si (1925) de unidade motora, como “*an individual motor nerve-fibre together with the bunch of muscle-fibres it activates*”. Na necessidade de dar significado à representação de um dado músculo na medula espinal, foi utilizado o termo de *pool* para definir o grupo de células nervosas constituintes das unidades motoras desse músculo. (Sherrington, 1929)

Várias zonas activas são formadas pelos terminais da arborização do axónio (desprovidos de mielina) – elemento pré-sináptico – que vão se apresentar opostos às invaginações do sarcolema da fibra muscular estriada – elemento pós-sináptico. A este conjunto de complexos sinápticos é designado de placa motora ou junção neuromuscular. (Hammond, 2012) (Figura 1.4)

**Figura 1.4 – Junção Neuromuscular**



**Legenda:** Junção neuromuscular de rato – fotografia de microscopia electrónica de varrimento  
Ax – Segmento terminal do axónio  
M – Célula muscular  
G – Fenda sináptica  
C – Vaso capilar  
N – Nervo motor  
S – Nucleo da célula de Schwann  
(Fonte: (Matsuda et al., 1988))

A despolarização do terminal axonal do neurónio pré-sináptico regula a libertação de neurotransmissores na fenda sináptica, através da abertura dos canais de  $Ca^{2+}$  voltagem-dependentes. De facto, durante o potencial de acção o influxo de cálcio e, conseqüentemente a concentração de cálcio na zona activa, aumenta consideravelmente em poucas centenas de microssegundos. (Kandel et al., 2000)

Na junção neuromuscular o neurotransmissor libertado é a acetilcolina (ACh). Através de exocitose (envolvendo a formação de um poro de fusão que atravessa a membrana plasmática e a da vesícula) uma dada quantidade de neurotransmissor armazenado em vesículas (quantum) é

libertada na fenda sináptica. Estas acções são componentes de uma extensa cascata de acontecimentos (p.e mobilização, ancoragem das vesículas à membrana plasmática, entre outras) e estão envolvidas na libertação vesicular do neurotransmissor (NT) dependentes de um conjunto de proteínas (sinapsina, Rab3A e Rab3C, v-SNARES, t-SNARES, entre outras) (Kandel et al., 2000).

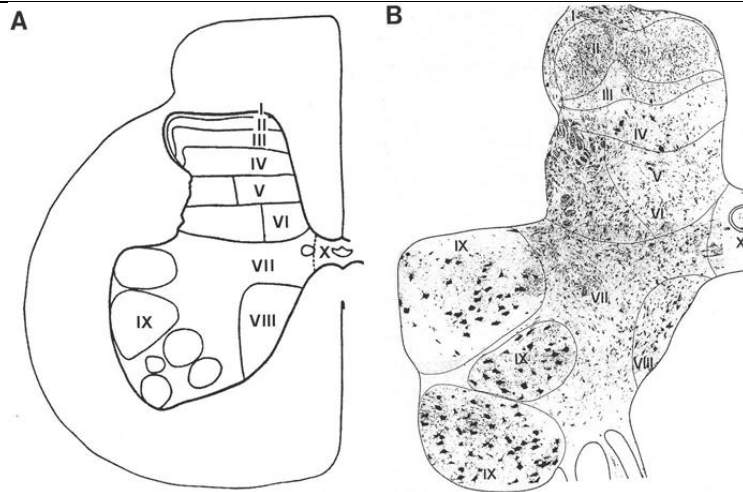
Após a activação dos receptores de acetilcolina, a membrana pós-sináptica torna-se mais permeável aos iões de  $\text{Na}^+$ . Este fluxo de  $\text{Na}^+$  para o interior da célula dá origem a um potencial de placa motora. Caso seja grande o suficiente provocará a abertura dos canais de  $\text{Na}^+$  voltagem-dependentes e dará origem a um potencial de acção que será transmitido ao longo do sarcolema (membrana plasmática da célula muscular). Este potencial será propagado para o reticulo sarcoplásmico resultando na libertação de iões de  $\text{Ca}^{2+}$  que levará à contração do músculo pelo deslizamento das miofibrilhas assim activadas (Snell, 2010).

### **1.2.2. A via motora - Do córtex ao nervo periférico**

Histologicamente, o córtex cerebral é dividido artificialmente em 6 camadas com base nas diferentes densidades e organização celular. No córtex motor primário (área 4 de Broadmann), na camada piramidal interna (camada V) e na camada piramidal externa (camada III) é possível observar uma região de baixa densidade celular constituída por células de grandes dimensões - células de Betz. Estas células de longos axónios constituem o primeiro neurónio motor (*UMN – upper motor neuron*) envolvido na via cortico-espinal monosináptica. Contudo, apenas um terço dos axónios que formam o tracto cortico-espinal tem origem no córtex motor primário. Os restantes têm origem nas áreas pré-motoras, suplementar motora e no córtex sensitivo primário (Snell, 2010).

Este feixe descendente cortico-espinal é dividido ao nível da protuberância pelas fibras ponto-cerebelosas transversais. Contudo, no bulbo, as fibras reúnem-se e formam a pirâmide bulbar. Na extremidade inferior do bulbo cerca de 80-90% das fibras motoras decussam dando origem ao feixe cortico-espinal lateral. As restantes fibras motoras descem na coluna anterior da medula - tracto cortico-espinal anterior. As fibras destes dois tractos terminam ambos na região anterior cinzenta da medula espinal (lamina Rexed – VIII)

**Figura 1.5 – Lâmina Rexed**



**Legenda:** Medula espinal. **A-** Desenho Esquemático das laminae Rexed da intumescência lombo-sagrada no gato (método de Nissl por Rexed em 1954) **B-** Laminae Rexed da medula espinal humana - nível L5, método Nissl fonte: Schoenen and Faull, 2004

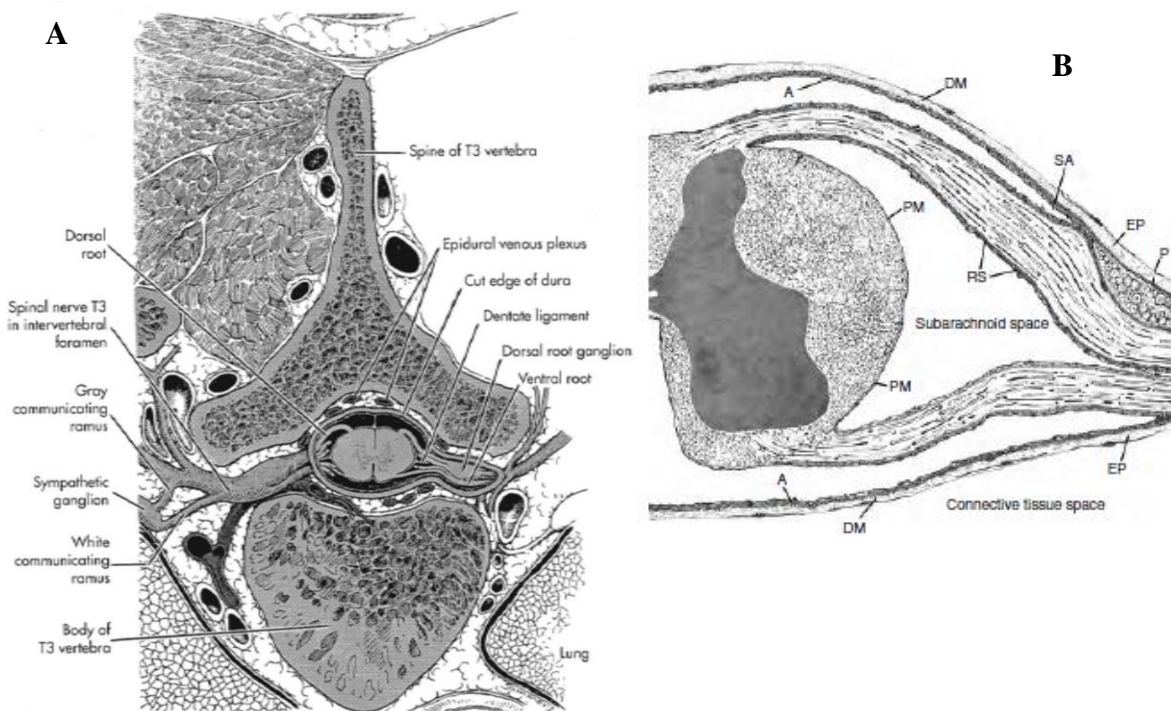
A maioria das fibras cortico-espinais efectuam uma sinapse com interneurónios medulares que por sua vez vão estabelecer uma sinapse com os neurónios motor alfa e alguns neurónios motor gama. Assim, apenas os axónios cortico-espinais de maiores dimensões (com origem nas células de Betz) sinapsam directamente com os neurónios motor alfa de maiores dimensões.

### 1.2.3. Medula espinhal – Macro-morfologia e relação anatómica

É uma estrutura grosseiramente cilíndrica localizada no *foramen vertebral*. Inicia-se no *foramen magnum* superiormente e termina caudalmente (no adulto) ao nível do bordo inferior da primeira vertebra lombar. Inferiormente é fixada à porção posterior do cóccix, por um filamento de *pia-mater* – *filum terminale*. Na região cervical e lombar observa-se um alargamento fusiforme da medula, dando origem ao plexo braquial e ao plexo lombo-sagrado, respectivamente.

Do ponto vista topográfico, partindo da região dorsal, e após a pele (epiderme, derme, hipoderme), o tecido celular subcutâneo e o tecido muscular, temos de considerar os ligamentos supraespinhoso e ligamento interespinhoso, a apófise espinhosa, o ligamento amarelo, a lâmina posterior das vertebrae, o espaço epidural, a *dura-mater*, a aracnoideia, espaço subaracnoideu, a *pia-mater*, a medula espinhal, ligamento longitudinal posterior, o corpo das vertebrae e os discos intervertebrais assim como o ligamento anterior. (Figura 1.6)

**Figura 1.6 – Medula espinhal**



**Legenda:** Medula espinhal. A- Desenho Esquemático da relação anatómica da medula espinhal com estruturas adjacentes; B- medula espinhal A – aracnoide; DM - Dura mater; EP – epineurium; En- endoneurium; P – pia mater; (Halter and Low, 1971)

Todavia, a medula espinhal não serve apenas como um conductor de fluxo bidireccional entre o encéfalo e a periferia, mas também abriga um circuito que se acredita ser quase independente para algumas funções motoras, tais como, movimentos de locomoção e alguns reflexos medulares segmentares (Iglesias, Nielsen, & Marchand-Pauvert, 2008).

O sistema cortico-motoneuronal apresenta relação com uma extensa rede motora cortical e subcortical e com diferentes vias cortico-espinais. Esta contribuição e relação interdependente permite o desenvolvimento de programas motores adaptativos, o controlo selectivo na execução do movimento tal como na aquisição de novas capacidades motoras (Lemon, 2008). Uma desregulação da excitabilidade motora, por exemplo alteração do controlo inibitório dos MN, pode decorrer da degeneração de interneurónios inibitórios ou pela perda da acção excitatória colinérgica das células Renshaw (Ramírez-Jarquín, Lazo-Gómez, Tovar-y-Romo, & Tapia, 2014). A elevada complexidade estrutural e funcional de vários circuitos com os neurónios motores dificulta a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos de doenças com envolvimento motor, como a esclerose lateral amiotrófica.

## **1.3| Estimulação por Corrente Directa**

### **1.3.1| Contextualização histórica**

Segundo relatos históricos, em 47 d.C Scribonius Largus médico da corte imperial romana (dinastia julio-claudiana reinado *Claudius*) utilizava já as propriedades eléctricas da raia eléctrica (“*black torpedo fish*”) para tratamento da *migraine* e gota. Porém, apenas na segunda metade do século XVIII foi descrito pela primeira vez a consciente utilização e o seu valor deste método aplicado à medicina por Van der Lott (Brunoni et al., 2013).

Em 1773, Sir John Walsh cientista britânico publica um artigo sobre as propriedades eléctricas da raia eléctrica, iniciando o estudo científico da bioelectricidade. (Walsh & Seignette, 1773). Seguiu-se Galvani (1791) e Volta (1792). Contudo a primeira descrição do uso da estimulação eléctrica transcraniana (transcranial electrical stimulation – TES) para tratar a melancolia foi aplicada por Giovanni Aldini. (Brunoni et al., 2013)

### **1.3.2| tDCS e tsDCS: substracto Fisiológico**

Priori e o seu grupo e, posteriormente, Nitsche e Paulus apresentaram um método de estimulação cerebral não invasiva de corrente eléctrica directa de reduzida voltagem distribuída através do crânio – Estimulação transcraniana por corrente directa (*transcranial direct current stimulation - tDCS*). (Brunoni et al., 2013). Com este método uma corrente de baixa intensidade aplicada sobre o córtex motor através do escalpe íntegro tinha a capacidade de modular a excitabilidade cortical. Na verdade, esta técnica não invasiva, indolor e reversível, foi capaz de modular a excitabilidade do córtex motor após vários minutos do fim da estimulação. As alterações da excitabilidade e a sua duração mostraram-se dependentes da polaridade, bem como da duração e intensidade de corrente. De um modo geral, os resultados dos vários estudos sugerem que a estimulação anódica e a catódica são capazes de excitar e inibir o córtex, respectivamente. (Nitsche & Paulus, 2000) Os autores indicam que os efeitos descritos provavelmente derivam da modificação da polarização da membrana, decorrente da interacção com a polaridade de proteínas membranares. No entanto, estas alterações persistentes da excitabilidade podem dever-se a alterações funcionais relacionadas com a potenciação pós-tetanica, potenciação de curto e de longo termo, assim como a processos semelhantes aos observados na inibição central pós-excitatória. ( Nitsche & Paulus, 2000)

A corrente derivada da tDCS é distribuída pelo crânio a partir de um eléctrodo de estimulação posicionado sobre a área cortical que se deseja modular, enquanto o eléctrodo de referência é usualmente colocado num local distante (Miranda, Lomarev, & Hallett, 2006).

O efeito da estimulação DC depende da topografia dos neurónios em relação ao campo eléctrico gerado (Elbasiouny & Mushahwar, 2007), das interações entre os circuitos neuronais envolvidos (Bikson et al., 2004) e da polaridade dos eléctrodos.

A medula espinal é uma estrutura complexa integrando vários circuitos neuronais próprios, estando envolvida em diversas condições clínicas. Eccles demonstrou em 1962 que a aplicação de correntes polarizantes (d direcção dorso-ventral) na medula espinal de gatos modificava o potencial de membrana de neurónios motores e a excitabilidade das fibras aferentes (Ia) primárias dos músculos esqueléticos. As alterações encontradas indicavam despolarização ventral e hiperpolarização dorsal com correntes hiperpolarizantes (anódicas) e vice-versa com correntes despolarizantes (catódicas), quando aplicadas na região medular dorsal.

Devido ao interesse científico e clínico na capacidade de modulação das respostas medulares surge a tsDCS (estimulação por corrente directa espinal transcutânea), como uma técnica simples, indolor e não invasiva aplicável no estudo da modulação de funções da medula espinal (Cogiamanian et al., 2011; Jean Charles Lamy & Boakye, 2013). Tal técnica foi aplicada pela primeira vez em 2008, no estudo exploratório de Filippo Cogiamanian (Cogiamanian, Vergari, Pulecchi, Marceglia, & Priori, 2008). Mais especificamente, os resultados deste estudo sugerem um efeito na modulação dos cordões posteriores (Cogiamanian et al., 2008), tendo despoletado o interesse da aplicação deste método na investigação da plasticidade espinal, com potencial utilização na reabilitação motora e no controlo da dor.

Na tDCS é relativamente consensual que ocorre uma excitabilidade associada à estimulação anódica, enquanto na catódica está associada à depressão da actividade neuronal. (Bikson et al., 2004). Contudo estudos de tsDCS tem mostrado resultados opostos na dependência da polaridade em relação à distribuição da corrente. Mais especificamente, tem sido apresentada a diminuição da excitabilidade espinal após a-tsDCs enquanto a estimulação catódica tem o efeito contrário (Zaghloul Ahmed, 2011). Do mesmo modo que relativamente ao tDCS, tem sido sublinhado na literatura que a posição do eléctrodo de retorno pode influenciar os efeitos na estimulação tsDC, do que se resulta ser defendido que o tipo de montagem deve ser sempre seleccionada de acordo com o objectivo do estudo (Woods et al., 2015).

No caso da tsDC, sendo a colocação dos eléctrodos externa ao canal vertebral (ou transcutânea), não é previsível lesão neuronal térmica e tóxica, devido aos tecidos interposicionados que protegem a medula espinal. Contudo, a resistência eléctrica destes tecidos diminuí a intensidade do campo eléctrico na medula espinal, e assim poderá reduzir o efeito observável (Hernández-Labrado, Polo, López-Dolado, & Collazos-Castro, 2011)

Existem vários factores biofísicos em que afastam estas duas técnicas (tsDCS da tDCS) com provável impacto no respectivo efeito (Zaghloul Ahmed, 2011). Entre os quais citamos: as montagens de tDCS condicionam menor distância entre os eléctrodos de estimulação e a estrutura alvo da modulação comparativamente à tsDCS (em termos biofísicos sabe-se que distância entre os dois eléctrodos se correlaciona negativamente com a duração e magnitude dos efeitos induzidos (Moliadze, Antal, & Paulus, 2010); diferentes estruturas envolventes do tecido nervoso (ausência de músculo e reduzido tecido adiposo no escalpe, mas espessa calote craniana), com diferente conductância (ver tabela 1.1); assim como o maior volume conductor das estruturas ao redor da medula comparativamente ao córtex, o que influencia a dispersão e a densidade da corrente (J.C Lamy, Ho, Badel, Arrigo, & Boakye, 2012). Estas variações resultam na necessidade de aplicação de correntes com maior intensidade na estimulação trans-medular (Zaghloul Ahmed, 2014).

Por outro lado, há marcadas diferenças na constituição morfo-funcional entre o córtex e a medula, relativamente à organização dos aferentes, interneurónios e eferentes, assim como distintas propriedades electrofisiológicas das populações de neurónios. Uma dessas propriedades é a polarização, sendo esta característica dependente da orientação celular. Embora Ahmed tenha afirmado que a tsDCS module a excitabilidade dos interneurónios espinhais no modelo animal (Z. Ahmed, 2013a), e dado que os interneurónios são orientados de forma regular na medula, os possíveis efeitos da aplicação da técnica poderão apenas depender dos neurónios medulares motores e sensitivos (Bikson et al., 2004; Fuortes, 1956). Também a orientação específica das fibras longitudinais e transversais na medula é fundamental na compreensão da sua susceptibilidade às correntes geradas pelo tsDCS (Zaghloul Ahmed, 2011; Creutzfeldt, Fromm, & Kapp, 1962), tal como a topografia dos neurónios espinhais em relação à direcção da corrente (Bikson et al., 2004).

**Tabela 1.1 – Valores de conductância por estrutura**

Tipo de estrutura	Conductância ( $\sigma$ )
Pele	0,1
Tecido ósseo	0,020
Tecido muscular	0,16
Tecido adiposo subcutâneo	0,078
LCR	1,59
<b>Legenda:</b> valores de conductância de algumas estruturas entre o eléctrodo sobre a apófise espinhosa vertebral e a medula espinhal. LCR – liquido cefalo-raquidiano; Adaptado de (Parazzini et al., 2014)	



### **1.3.3| tsDCS: Mecanismos acção no sistema motor**

Os efeitos dos campos eléctricos podem ser estudados ao nível sub-celular, celular e a nível da população neuronal.

Enquanto que os estudos clínicos resultantes da aplicação desta técnica têm revelado resultados inconsistentes e por vezes contraditórios, os estudos em modelo animal têm mais consenso nas suas conclusões. De uma forma geral, os resultados em modelo animal têm permitido indicar que o aumento da excitabilidade é associado à aplicação de c-tsDCS, enquanto o efeito inibitório deriva da aplicação da a-tsDCS (Aguilar et al., 2011; Zaghoul Ahmed, 2011), sendo o efeito dependente da polaridade oposto ao descrito na tDCS.

A modulação pode ocorrer da alteração directa do potencial de repouso e do limiar dos neurónios motores, como sugerido para o efeito da DC no córtex motor (M Nitsche & Paulus, 2000; Michael Nitsche, Nitsche, et al., 2003), se a intensidade do campo eléctrico gerado for suficiente para esse efeito.

Num estudo no modelo animal, no qual se pretendeu estudar os efeitos da tsDCS na actividade dos MN medulares, com um eléctrodo activo subcutâneo em T10-L1 e o de referência sobre a região abdominal lateral, os autores ( Ahmed, 2011) verificaram que a-tsDCs condicionou maior frequência e amplitude da actividade espontânea destes neurónios comparativamente à c-tsDCS, contudo esta última corrente causou um recrutamento mais ritmico ( Ahmed, 2011). Estes autores sugerem que a c-tsDCS pode tornar os MN mais sensíveis à activação sináptica mas menos capazes de gerar actividade espontânea, contrariando o efeito da a-tsDCS que seria de reduzir o limiar para a actividade espontânea dos neurónios motores ( Ahmed, 2011). Na verdade estes resultados sustentam experiências anteriores (Alanis, 1952) nas quais a aplicação de uma corrente catódica na raiz ventral levou ao aumento da excitabilidade dos MN medulares como resposta à estimulação de receptores cutâneos.

No entanto, existe uma grande complexidade de interações, pois na medula o *input* sensitivo periférico e as projecções de centros superiores modulam a excitabilidade dos MN medulares pelos interneurónios, através de circuitos segmentares (Jankowska, 1992; Pierrot-Deseilligny & Burke, 2012) Desta forma, o campo eléctrico gerado pode influenciar a excitabilidade dos MN medulares de forma indirecta, por exemplo pela estimulação de aferentes sensitivos.

Os MN e os interneurónios excitatórios medulares encontram-se sob influência do *input* tónico inibitório de interneurónios espinhais GABAérgicos e glicinérgicos. O bloqueio dos receptores glicinérgicos e GABAérgicos poderão desinibir os interneurónios espinhais excitatórios levando à actividade espontânea oscilatória de MN medulares (Jiang, Schuster, Fu, Siddique, & Heckman, 2010). Comparativamente ao bloqueio destes receptores, a c-tsDCs parece também poder induzir actividade motora sob a forma de salvas e actividade oscilatória. Ahmed aponta que

esta semelhança possa significar um mecanismo comum envolvendo os circuitos geradores de ritmo na medula espinhal (Ahmed, 2013b; Ahmed, 2011).

Trabalhos mais recentes no modelo animal suportam que a c-tsDCS pode afectar a cinética dos movimentos articulares elicitados pela estimulação eléctrica cortical, em particular causando aumento na amplitude, duração e rapidez do movimento (Ahmed, 2013a), o que vem na sequência dos achados de outros estudos (Ahmed & Wieraszko, 2012; Ahmed, 2011). A maior rapidez pode derivar de um processamento cortical mais eficaz pela potenciação do *feedback* sensitivo tónico (Aguilar et al., 2011).

Por outro lado, ainda no modelo animal, a estimulação medular anódica tende a deprimir a activação dos MN (Zaghloul Ahmed, 2011). Estes resultados podiam ser previstos pelo clássico trabalho de Eccles e colaboradores (B. Y. J. C. Eccles, Schmidt, & Willis, 1962) que verificaram que a estimulação anódica medular causou redução das aferências das fibras Ia com impacto no EPSP dos MN medulares.

Vários autores têm apontado a tsDCS como técnica neuromodulatória com alterações imediatas e a longo termo na excitabilidade da medula espinhal (Aguilar et al., 2011; Ahmed, 2011; Lamy et al., 2012) tendo sido já descrita a possibilidade de ocorrerem possíveis mecanismos compatíveis com fenómenos de plasticidade, tais como potenciação de longo termo (LTP) e depressão de longo termo (LTD), com possível envolvimento na transmissão sináptica glutamatérgica resultando no aumento de  $Ca^{2+}$  intracelular no neurónio pós-sináptico (Ahmed & Wieraszko, 2012).

Pela análise da modulação do *output* corticoespinhal em animais acredita-se que a tsDCS influencie a libertação de neurotransmissores (Ahmed & Wieraszko, 2012), como o aumento da libertação de glutamato, deste modo condicionando maior resposta segmentar a estímulos supramedulares (Ahmed, 2013a). Por exemplo, reduzindo o limiar excitatório cortical das áreas motoras, tal como identificado em vários estudos.

#### **1.3.4| tsDCS: modelos computacionais**

Muito recentemente começaram a surgir modelos computacionais que exploram a distribuição da corrente eléctrica induzida pela aplicação da tsDCS na medula espinhal (Fernandes, Wenger, Salvador, de Carvalho, & Miranda, 2015; Fernandes, Wenger, de Carvalho, & Miranda, 2015; Parazzini et al., 2014; Parazzini, Rossi, Ravazzani, & Priori, 2013).

Em 2014, foi publicado um artigo de título “*Modeling the current density generated by transcutaneous spinal direct current stimulation (tsDCS)*”. Este documento constituiu o primeiro modelo do comportamento do fluxo de corrente tsDCS aplicado na medula espinhal, em modelos

humanos saudáveis, tendo por base imagens reais de MRI de alta resolução (Parazzini et al., 2014).

Das três montagens apresentadas pelo grupo apenas o eléctrodo de referência variou de posição: montagem A - porção inferior e lateral ao ombro direito; montagem B - 2 cm superior ao umbigo e montagem C - sobre o vértex (sobre Cz no sistema internacional 10-20). O eléctrodo activo foi colocado sobre a décima vertebra torácica (T10) (Parazzini et al., 2014). Foram obtidos maiores valores de densidade de corrente a nível da região torácica, na cauda equina, na região lombar e na região cervical (Parazzini et al., 2014). Ainda neste estudo, foi mostrado que ao nível sacro/coccígeo a montagem B foi aquela que conseguiu induzir valores superiores de densidade de campo de corrente na porção inicial do nervo ciático (Parazzini et al., 2014). Interessantemente, em todas as montagens observou-se que a densidade de corrente foi sobretudo distribuída no sentido longitudinal (Parazzini et al., 2014). Conclui-se que o objectivo de estudo deve direccionar a escolha da montagem. (Parazzini et al., 2014). Apesar do componente transversal ser menor que o longitudinal, a distribuição da densidade de corrente é uniforme em cortes transversais da medula. Deste modo, os feixes os axonais dorsais e ventrais recebem intensidades de campo eléctrico semelhantes (Parazzini et al., 2014). No entanto este estudo tem limitações com eventual impacto nos resultados, como a resolução das imagens de MRI utilizadas, a elevada fracção de substância branca mielinizada que introduz anisotropia ao modelo, bem como um espectro irregular de tipos de tecidos que envolvem a medula espinhal (Toshev, Guleyupoglu, & Bikson, 2014).

O grupo do Professor Pedro Miranda, com a nossa colaboração, tem trabalhado neste assunto perspectivando a construção de um modelo mais detalhado (Fernandes, Wenger, Salvador, de Carvalho, & Miranda, 2015; Fernandes, Wenger, de Carvalho, & Miranda, 2015).

### **1.3.5| tsDCS: segurança e tolerabilidade**

Sendo certamente uma técnica segura, as diferenças entre tsDCS e tDCS, como a distância entre os eléctrodos, os valores de densidade de corrente, as propriedades dos neurocircuitos extrínsecos e intrínsecos da medula espinhal, conferem especificidades próprias à tsDCS em termos de segurança (Jean Charles Lamy & Boakye, 2013). A técnica apresenta boa tolerabilidade apesar de terem sido relatados sintomas de parestesias (i.e prurido e calor) no local de fixação dos eléctrodos, em vários estudos (Cogiamanian et al., 2008; J.C Lamy et al., 2012; Niérat, Similowski, & Lamy, 2014; Winkler, Hering, & Straube, 2010b). Nenhum estudo presente na literatura reportou efeitos adversos persistentes ou de relevo após estimulação com tsDCS.

Os valores teóricos de densidade de corrente presentes na literatura variam entre 0,056 a 0,071 mA/cm<sup>2</sup> (Cogiamanian et al., 2008; Heide et al., 2014; Truini et al., 2011), sendo o valor

ligeiramente mais alto (0,085 A/m<sup>2</sup>) na região cervical, na montagem C no modelo de Parazzini (Parazzini et al., 2014). Estes valores encontram-se muito distantes do limiar de 250A/m<sup>2</sup> (Cogiamanian et al., 2012) associado a possível dano tecidual.

A quantificação do marcador de dano neuronal enolase sérica específica do neurónio, não aumentou após a aplicação de tsDCS anódica a 2,5 mA por 15 minutos (Cogiamanian et al., 2008). Em cortes transversais de medula espinal de ratos após tsDCS anódica e catódica de densidade de corrente máxima de 38,22 A/m<sup>2</sup> não foram observadas alterações do número ou da morfologia celular através de análise histoquímica (Zaghloul Ahmed, 2011).

Ainda que pouco provável, alguns autores não excluem potenciais efeitos nocivos na aplicação da técnica devido à elevada densidade de corrente, por exemplo no canal medular (Cogiamanian et al., 2008). Os mesmos recomendam estudos por MRI ou espectroscopia (Cogiamanian et al., 2008), assim como incrementar a investigação em modelo computacional (Toshev et al., 2014) e animal (Zaghloul Ahmed, 2011; Jean Charles Lamy & Boakye, 2013) por forma a haver maior informação sobre este assunto.

### **1.3.6| tsDCS: Interesse clínico**

Lamy no editorial de título “*Seeking significance for transcutaneous spinal DC stimulation*” esclarece a urgência clínica da necessidade de ferramentas de intervenção na modulação da excitabilidade medular (Jean Charles Lamy & Boakye, 2013) apontando a tsDCS como um método a ser explorado. Efectivamente, a tsDCS como método único ou complementar poderá promover a aprendizagem motora e a recuperação funcional da medula (Zaghloul Ahmed & Wieraszko, 2012), não sendo de excluir a modulação de circuitos rostrais à medula espinal via feixes ascendentes com um papel na patologia psiquiátrica (Jean Charles Lamy & Boakye, 2013).

Após lesão cerebral, medular ou do nervo periférico, o tecido neuronal poupado é submetido a uma reorganização e alterações da excitabilidade (Zaghloul Ahmed & Wieraszko, 2012).

Inúmeras patologias do foro neurológico estão envolvidas em processos de aumento ou diminuição do tónus muscular (Zaghloul Ahmed, 2014). No caso de lesão medular, a espasticidade deriva de um aumento da excitabilidade dos MN espinhais (Theiss & Heckman, 2005), quer por alteração da função dos interneurónios (Onushko, Hyngstrom, & Schmit, 2011) e ou por perturbação circuitos neuronais. Neste contexto, observa-se uma redução da variabilidade na frequência de recrutamento das unidades motoras, provavelmente por maior activação das PICs, resultando num um *plateau* estável de hiperactivação dos neurónios motores medulares,

tornando-se a sua excitabilidade estável e resistente a pequenas alterações de *inputs* (Lee & Heckman, 1998).

Tem sido sugerido existir na esclerose lateral amiotrófica (ALS) uma vulnerabilidade preferencial das unidades motoras do tipo FF (Ilieva, Polymenidou, & Cleveland, 2009). Contudo, tal aspecto tem sido discutido (Leroy & Zytnicki, 2015). Alguns estudos recentes têm apontado uma hiperexcitabilidade inicial das unidades motoras de tipo S na ALS (Leroy, Lamotte d'Incamps, Imhoff-Manuel, & Zytnicki, 2014). Como já supramencionado, este tipo de unidades motoras apresentam baixo limiar e PICs prolongadas (Lee & Heckman, 1998).

Em ambas as condições acima mencionadas, doenças degenerativas que afectem os MN medulares e na lesão medular, a tsDCS pode ter um papel modulador benéfico, a ser explorado.

### **1.3.7| tsDCS: aplicabilidade e estudos existentes**

Vários estudos aplicaram tsDCS com o objectivo de modular circuitos e vias neuronais no modelo animal – (Aguilar et al., 2011; Ahmed, 2013a, 2013b; Ahmed, Freedland, & Wieraszko, 2010; Ahmed & Wieraszko, 2012; Ahmed, 2010, 2011).

Decorrente do seu interesse, tem surgido um número crescente de artigos de carácter exploratório com distintos parâmetros de estimulação de tsDCS. Na avaliação das respostas um conjunto variável de medidas clínicas e neurofisiológicas têm sido usadas, quer de vias eferentes (tractos corticoespinhais) quer vias aferentes, como os cordões posteriores ( Ahmed, 2010; Cogiamanian et al., 2008; Lamy & Boakye, 2013).

Desde que a técnica (tsDCS) foi descrita, foram publicados em humanos e do nosso conhecimento, até à redação deste trabalho, 14 artigos. A tabela 1.2 sumariza a metodologia e os resultados.

Autor(es)	Parâmetros utilizados de tsDCS	Montagem tsDCS	Resultados/Conclusões
(Cogiamanian et al., 2008)	I = 2,5 mA Δt = 15 min J = 0,071 mA/cm <sup>2</sup> Q <sub>T</sub> = 63,9 mC/cm <sup>2</sup>	E. alvo: T10 (apófise espinhosa) E. retorno: ombro direito Espessura = 6 mm Area = 35 cm <sup>2</sup> (squared) (Sham, anódica, Catódica)	a-tsDCS: Redução da amplitude do componente cervico-medular (P30) evocado por estimulação bilateral PTN <b>1º estudo com avaliação do efeito da estimulação DC sobre a medula espinal em humanos</b>
(Winkler, Hering, & Straube, 2010a)	I = 2,5 mA Δt = 15 min J = 0,063 mA/cm <sup>2</sup> Q <sub>T</sub> = 56 mC/cm <sup>2</sup>	E. alvo: 2 cm à esquerda da região paravertebral de T11 E. retorno: região infraclavicular esq. A = 40 cm <sup>2</sup> (squared) (Sham, anódica, Catódica)	Aumento/diminuição da pós-depressão do reflexo H após c-tsDCS e a-tsDCS, respectivamente
(Cogiamanian et al., 2011)	I = 2 mA Δt = 15 min J = 0,071 mA/cm <sup>2</sup> Q <sub>T</sub> = 63,9 mC/cm <sup>2</sup>	E. alvo: T10 (spinous proc.) E. retorno: right shoulder Espessura = 6 mm A = 35 cm <sup>2</sup> (rectangular)	a-tsDCS: induz redução da area do LL-FR e do RIII
(Truini et al., 2011)	I = 2,5 mA Δt = 20 min J = 0,071 mA/cm <sup>2</sup> Q <sub>T</sub> = 63,9 mC/cm <sup>2</sup>	E. alvo: T10 (apófise espinhosa.) E. retorno: ombro direito Espessura = 6 mm A = 35 cm <sup>2</sup> (rectangular)	a-tsDCS: redução da amplitude dos componentes dos LEP, N1 e do N2 c-tsDCS: aumento da tolerância à dor/limiar de dor no teste cold pressor
(Shin & Lim, 2011)	I = 2,0 mA Δt = 20 min J = 0,071 mA/cm <sup>2</sup> Q <sub>T</sub> = 85,7 mC/cm <sup>2</sup>	E. alvo: – Pescoço - Porção anterior E. retorno: – Pescoço - Porção posterior (Sham, anódica, Catódica)	Aumento da amplitude do MEP após AC e CA
(J.C Lamy et al., 2012)	I = 2,5 mA Δt = 15 min J = 0,071 mA/cm <sup>2</sup> Q <sub>T</sub> = 63,9 mC/cm <sup>2</sup>	E. alvo: T11 (apófise espinhosa) E. retorno: ombro direito - porção posterior Espessura = 6 mm A = 35 cm <sup>2</sup> (rectangular) (Sham, anódica, Catódica)	a-tsDCS: deslocamento para a esquerda da curva de recrutamento do reflexo H durante e após 15 minutos

(Hubli, Dietz, Schrafl-Altermatt, & Bolliger, 2013)	I = 2,5 mA Δt = 20 min J = 0,056 mA/cm <sup>2</sup> Q <sub>T</sub> = 100,8 mC/cm <sup>2</sup>	E. alvo: T11-T12 (spinous proc.) E. retorno: ombro esquerdo A = 45 cm <sup>2</sup> (rectangular) (Sham, anódica, Catódica)	a-tsDCS: Aumento da amplitude do SR e diminuição da RT
(Perrotta et al., 2015)	I = 2 mA Δt = 15 min J = 0,071 mA/cm <sup>2</sup> Q <sub>T</sub> = 63,9 mC/cm <sup>2</sup>	E. alvo: T10 E. retorno: região supraescapular direita Espessura = 1 mm A = 35 cm <sup>2</sup> (rectangular) (Sham, anódica, Catódica)	a-tsDCS: aumento da TST da NWR e diminuição na “ <i>psychophysical temporal summation of pain</i> ”
(Meyer-Frießem et al., 2015)	I = 2,5 mA Δt = 15 min J = 0,071 mA/cm <sup>2</sup> Q <sub>T</sub> = 63,9 mC/cm <sup>2</sup>	E. alvo: centrado sobre o processo espinhoso T11 - (T10–T12) E. retorno: sobre a face dorsal do ombro esquerdo A = 35 cm <sup>2</sup> (rectangular) (Sham, anódica)	a-tsDCS: diminuição da sensibilidade ao estímulo <i>pinprick</i> mecânico pesado pelo menos 1 h após o fim da estimulação
(Bocci et al., 2014)	I = 2,5 mA Δt = 20 min J = 0,071 mA/cm <sup>2</sup> Q <sub>T</sub> = 85,7 mC/cm <sup>2</sup>	E. alvo: T10 E. retorno: Entre C6 e T1 com maior e sobre o ombro direito (cervical tsDCS); 2ª experiência – avaliar se efeitos supraespinhais → activo – T9-T11, Espessura = 6 mm A = 35 cm <sup>2</sup> (rectangular) (Sham, anódica, Catódica)	c-tsDCS: aumento no recrutamento de unidades motoras no APB e ADM a-tsDCS e sham não apresentam efeito c-tsDCS: redução do PS periférico
(Heide et al., 2014)	I = 2,5 mA Δt = 15 min J = 0,056 mA/cm <sup>2</sup> Q <sub>T</sub> = 50 mC/cm <sup>2</sup>	E. alvo: região esquerda paravertebral (2cm) ao nível T11 E. retorno: sobre o ombro direito na região supraclavicular A = 45 cm <sup>2</sup> (rectangular) (Sham, anódica, Catódica)	a-tsDCS: Diminuição H2/H1-ratio para ISI de 0,3 entre t0 and t1 e diminuição significativa VAS score, em pacientes com RLS
(Bocci, Caleo, et al., 2015)	I = 2,5 mA Δt = 20 min J = 0,071 mA/cm <sup>2</sup> Q <sub>T</sub> = 85,7 mC/cm <sup>2</sup>	E. alvo: T10 (T9-T11) E. retorno: ombro direito Espessura = 6 mm A = 35 cm <sup>2</sup> (rectangular)	c-tsDCS: Aumento da área do MEP do AH a-tsDCS: Aumento do limiar motor (RMT)

(Niérat et al., 2014)	$I = 2,5 \text{ mA}$ $\Delta t = 15 \text{ min}$ $J = 0,071 \text{ mA/cm}^2$ $Q_T = 63,9 \text{ mC/cm}^2$	E. alvo: C3-C5 E. retorno: anterior ao electrode alvo Espessura = 6 mm A = 35 cm <sup>2</sup> (rectangular) (Sham, anódica, Catódica)	a-tsDCS e c-tsDCS: Aumento das amplitudes do DiMEP c-tsDCS: Aumento do volume tidal
<p><b>Tabela 1.2</b> - Resumo dos artigos sobre a temática tsDCS. <b>Legenda:</b> E. retorno – Eléctrodo alvo; E. retorno – Eléctrodo de retorno; PTN – nervo tibial posterior; TST- <i>temporal summation threshold</i> do NWR; NWR - <i>nociceptive withdrawal reflex</i>; DiMEP – PEM do diafragma; RMT – Limiar motor cortical; PS- período de silêncio; APB- <i>Abductor pollicis brevis</i>; ADM – <i>abductor digiti minini</i>; AH- <i>abductor hallux</i>; VAS – <i>visual analogue scale</i>; SR- <i>spinal reflex</i>; RT- <i>reflex threshold</i>; LL-FR - <i>lower-limb flexion reflex</i>; RIII- RIII reflex (resposta tardia do FR); ISI - <i>interstimulus intervals</i>; LEP – <i>laser evoked potentials</i></p>			



## 2| OBJECTIVO DO ESTUDO

---

Após a exposição dos fundamentos e perante resultados publicados diversos e inconsistentes, tendo em conta o interesse do nosso grupo no sistema motor, concluímos pela necessidade de testar um protocolo experimental rigoroso testando os efeitos da tsDCS numa população de controlo. Esta abordagem permite avaliar a eficácia da técnica, adequar parâmetros de estimulação e localização dos eléctrodos e, posteriormente, dirigir a sua aplicação para situações patológicas.

O principal objetivo do estudo consiste em avaliar a eficácia da tsDCS aplicada na região lombar na modulação da excitabilidade do sistema motor.

Como objectivos secundários propomos avaliar:

- A tolerabilidade do procedimento.
- As alterações da excitabilidade do sistema motor em função da polaridade do estímulo (i.e condição anódica e catódica).
- As alterações induzidas pela tsDCS na resposta sudo-motora (condição anódica e catódica).

## **3| METODOLOGIA**

---

### **3.1| Desenho do Estudo**

Com este trabalho, propõe-se um estudo exploratório, controlado, cego, “*cross-over*” e monocêntrico que permita avaliar a eventual modulação da corrente eléctrica transcutânea sobre os neurónios motores da medula lombo-sagrada, investigando os mecanismos fisiológicos que constituam o seu substracto.

### **3.2| Amostra**

A amostra enquadrou-se no tipo amostra por conveniência, dado incidir sobre um grupo de elementos pertencentes à população trabalhadora e estudantil da Faculdade de Medicina de Lisboa e Instituto de Medicina Molecular (Lisboa).

É constituída por 14 indivíduos (N=15-1) saudáveis com a média de idades, para a 1º sessão, de 27 anos e 18 dias (valor mínimo de 20 anos e máximo de 58 anos) e com uma distribuição de género masculino:feminino de 2:5.

Foram registados os dados demográficos de cada sujeito - nome, idade, data de nascimento, género.

Foram excluídos sujeitos com doença neurológica (em particular, lesão dos nervos periféricos estudados e patologia neuromuscular), doença metabólica (diabetes, hipotireoidismo), perturbação psiquiátrica conhecida, toma de fármacos com acção no sistema nervoso central ou periférico ou potencialmente neurotóxicos, bem como indivíduos com intolerância a qualquer dos procedimentos realizados durante o estudo. Não foram incluídas gestantes e lactantes.

Os sujeitos incluídos deram o consentimento informado.

Todos os participantes do estudo foram sujeitos a 3 sessões (placebo, catódica e anódica, por ordem aleatória). Um indivíduo foi excluído por intolerabilidade à estimulação magnética transcraniana, razão pela qual os restantes dados recolhidos não foram utilizados.

### **3.3| Considerações Éticas**

Este projecto de estudo e respectivo protocolo foram submetidos à aprovação da Comissão de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

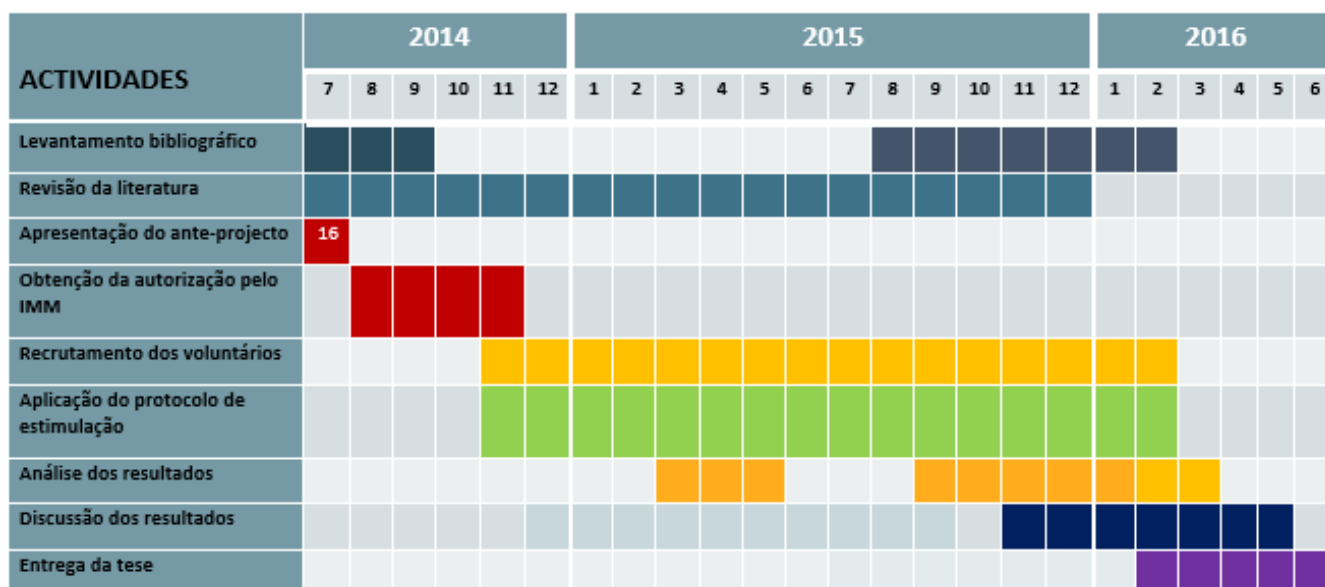
Todos os indivíduos incluídos assinaram o consentimento livre e informado (de acordo com o código de ética vigente, e que se anexa, e com a Declaração de Helsinki).

### **3.4| Equipa e Local**

O estudo dos parâmetros neurofisiológicos foi realizado pelo mesmo neurofisiologista com experiência nas técnicas aplicadas (o orientador, Professor Doutor Mamede de Carvalho), antes e após a aplicação da tsDCS (placebo, corrente anódica e corrente catódica), estando cego (ausente da sala e não informado) para o tipo de corrente aplicada a cada sujeito após o registo basal. A tsDCS foi aplicada em todos os sujeitos pela mestrande Mariana Pereira (técnica de neurofisiologia), que não participou nos registos neurofisiológicos, mas a quem coube a introdução e análise dos dados.

O estudo foi realizado no Instituto de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Lisboa, Unidade MCarvalho do IMM, no Piso 1 do Edifício Egas Moniz.

O desenvolvimento do projecto decorreu ao longo de 18 meses, conforme cronograma (figura 3.1).



**Figura 3.1** – Cronograma dos trabalhos realizados para esta tese

### **3.5| Material e condições de registo**

#### **3.5.1| Material**

Previamente à colocação dos eléctrodos superficiais foi aplicado esfoliante (*Nuprep, Weaver and Company, USA, ECG & EEG abrasive skin prepping gel*) e uma solução de álcool etílico a 96% (*Webaline, PT, Ref 118-132*) de forma a garantir a redução da impedância da pele.

A estimulação por corrente directa foi aplicada com uma bateria com estimulador (*BrainSTIM©, SEM, Bologna, Itália*). Os electródos de estimulação consistiram em superfícies quadrangulares de silicone, com espessura de 1 mm, e dimensões 5 x 5 cm, correspondendo a uma área de 25 cm<sup>2</sup>. Para a tsDCS a impedância foi controlada pelo equipamento de estimulação e mantida com a aplicação de um gel (*Sigma Gel, Parker, USA, electrode gel, Ref 15-25*).

Foi usado o mesmo tipo de eléctrodos superficiais para registo das respostas em todas as condições experimentais e em todos os sujeitos (*Alpine BioMed, Denmark, Ref 9013L0203*), assim como o mesmo gel (*Sigma Gel, Parker, USA, electrode gel, Ref 15-25*) na face de registo para assegurar boa relação sinal/ruído. Todos os eléctrodos foram fixos com fita adesiva (*3M – Heath Care, Durapore™, Germany, surgical tape, Ref 1538-1*) sobre a pele. Os registos ocorreram com valores de impedância inferior a 10 kOhms, como recomendado pela IFCN (Rossini et al., 2015). Na presença de valores mais elevados de impedância ou perante ruído (por exemplo artefacto de 50Hz) foram tomadas medidas de correcção, como nova limpeza da pele e re-colocação dos eléctrodos de registo. O eléctrodo terra (de banda) foi disposto entre o estimulador e o eléctrodo de registo. Todos os parâmetros neurofisiológicos foram registados com o equipamento de EMG (Keypoint©- Dantec-Natus).

A temperatura foi medida através de um termómetro digital (*TFA – Flash III, Germany, infrared-thermometer, Ref 814-055*) previamente ao registo inicial e após cada sessão (após o registo basal e após tsDCS).

A estimulação magnética transcraniana foi efectuada por um equipamento convencional através de uma bobine circular de 14 cm (*Medtronic MagPro ©, MagVenture, Dinamarca, Ref 9016E0412*).

### **3.5.2| Condições de registo**

#### **3.5.2.1| Temperatura e momento de registo**

Foram tomadas medidas de prevenção da expectável redução da temperatura dos membros inferiores entre o início do registo e o fim de cada sessão. Assim, os membros foram tapados logo que os registos eram obtidos, de forma a prevenir a redução da temperatura cutânea devido à imobilidade.

De forma a reduzir a variabilidade, a temperatura da sala onde se efectuaram os registos foi mantida entre os 21° a 23 °C, como sugerido na literatura (Kimura, 1989).

Todos os registos decorreram entre as 9:00 e às 11:30. Cada sessão teve a duração aproximada de 90 minutos. O tempo para completar o estudo de cada sujeito (i.e para finalizar as 3 sessões) foi em média de 3 meses e 18 dias.

#### **3.5.3| Posição do membro e outros parâmetros técnicos**

Para o registo, bem como durante a estimulação por tsDCS, os sujeitos permaneceram confortavelmente sentados numa poltrona ligeiramente reclinada.

Entre sessões foi pedido ao sujeito para relaxar.

Foi tida em conta a posição do membro em estudo, de modo a garantir consistência entre registos. O estudo do membro inferior foi realizado com a anca semi-flectida (120°), o joelho ligeiramente flectido (160°) e o tornozelo a 110° de flexão plantar. (Pierrot-Deseilligny & Burke, 2012).

Na avaliação basal a posição dos eléctrodos de registo foi ajustada de forma a obter uma resposta com amplitude máxima com um início bem definido do pico negativo.

Os eléctrodos ficaram fixos para todos os registos na mesma sessão.

### **3.6] Intervenção/Protocolo Experimental de estimulação – sessões de tsDCS**

Após o estudo inicial das medidas neurofisiológicas (*basal/T0*), o indivíduo foi submetido à sessão de tsDCS com reavaliação posterior imediata (*T1*).

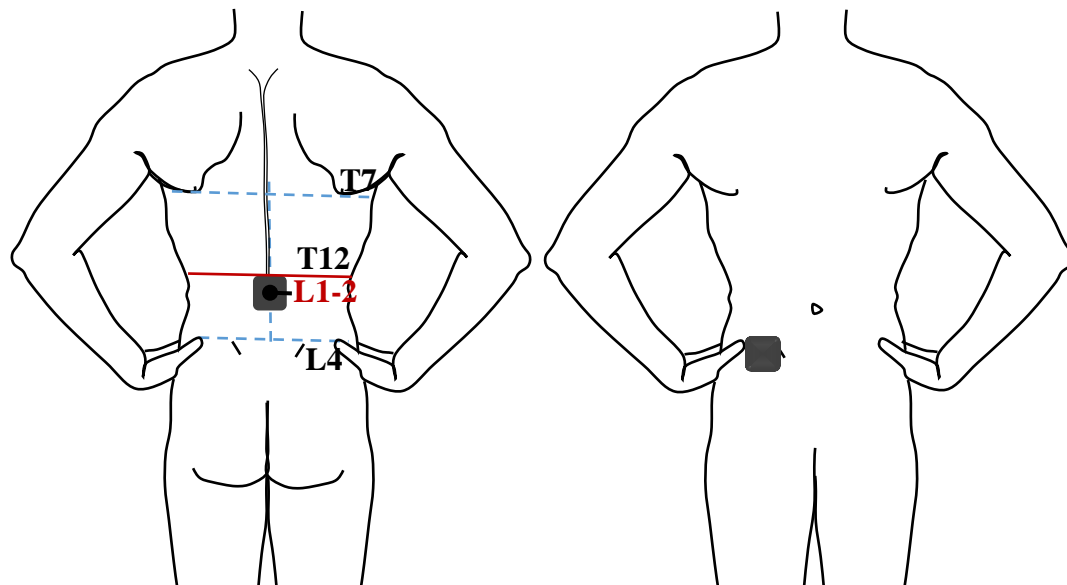
Os parâmetros de estimulação anódica e catódica foram semelhantes, distinguindo-se apenas na polaridade da corrente de estimulação. A polaridade da tsDCS é referente ao eléctrodo colocado sobre a região lombar.

O eléctrodo activo foi colocado sobre as apófises espinhosas da primeira e segunda vértebras lombares, localizadas pela semi-secção de uma linha longitudinal estabelecida entre duas linhas horizontais, sendo a superior definida pela linha que une os bordos inferiores das duas omoplatas (~7º vértebra torácica) e a inferior pela linha que une os bordos postero-superiores das duas cristas ilíacas (~4º vértebra lombar). Tal posição é ainda ajustada pela palpação do bordo inferior da 12ª costela (~12º vértebra torácica). O eléctrodo de referência ficou colocado sobre o bordo antero-superior da crista ilíaca esquerda. (como na figura 3.2)

---

**Figura 3.2 – Montagem de tsDCS**

---



**Legenda:** Desenho esquemático da montagem de tsDCS do presente trabalho – posição dos eléctrodos activo e de referência (imagem elaborada pelos autores)

Relativamente à estimulação activa (catódica e anódica), após a montagem e verificação das impedâncias, foi aplicado fluxo de corrente directa em forma de “rampa”, durante 960 segundos, ou seja, 30 segundos iniciais para chegar à intensidade pretendida, 15 minutos (900 segundos) de

estimulação efectiva a 2,5mA, seguida de 30 segundos para redução da intensidade de estimulação até 0mA.

Esta aplicação resultou numa densidade de corrente de 0,001 A/cm<sup>2</sup> e carga total de 90 C/cm<sup>2</sup>, calculado segundo as fórmulas (Figura 1.9 e 1.10). Estes valores teóricos encontram-se muito distantes do *threshold de 250A/m<sup>2</sup>* (Cogiamanian et al., 2012), para possível lesão cutânea ou do tecido nervoso.

### Figura 3.3 - Fórmula da densidade de corrente

$$J = \frac{I}{A}$$

Onde  $J$  é densidade de corrente (A/m<sup>2</sup>),  $I$  a intensidade de corrente (Amperes) e  $A$  a área (m<sup>2</sup>)

### Figura 3.4 - Fórmula da carga total

$$I = \frac{Q}{t}$$
$$\leftrightarrow [A] = \frac{[C]}{[S]}$$
$$\leftrightarrow C = [A] \cdot [S]$$

Em que  $I$  é o valor de corrente (Amperes),  $Q$  a corrente total e  $t$  o tempo/duração do pulso (em segundos). Em equivalente a carga total (representada pelo  $C$  (pela letra é a multiplicação da área –  $A$  em (m<sup>2</sup>) pela duração total de estimulação (em segundos) (Agnew & McCreery, 1987).

A escolha dos parâmetros de estimulação utilizados neste estudo foi suportada pela literatura disponível (publicada entre 2008 e 2014) de forma a permitir uma desejável comparação de resultados (Ariodante et al., 2013; Bocci et al., 2014; Parazzini et al., 2014).

A tsDCS placebo foi caracterizada por uma estimulação activa apenas nas fases de rampa inicial e final (30 segundos em cada fase) sendo a corrente nula nos 900 segundos restantes. Desta forma a corrente induzida nos tecidos foi virtualmente nula, mas nenhum sujeito foi capaz de diferenciar a modalidade de estimulação (placebo versus anódica versus catódica).

A modalidade da sessão foi codificada com as letras A, B e C e aplicadas de forma pseudo-randomizada. Como dito acima, o avaliador das respostas neurofisiológicas (Professor Doutor Mamede de Carvalho) estava cego sobre a corrente utilizada em cada sessão, tal como os sujeitos voluntários.

Durante cada sessão os sujeitos foram questionados sobre efeitos adversos, como parestesias, calor local e dor. Em geral, a tsDCS foi bem tolerada por todos os sujeitos participantes do estudo, e não foram descritos efeitos secundários a médio ou longo termo. No entanto, a maioria dos

sujeitos relatou ligeira sensação de queimadura e prurido localizadas nos locais de fixação dos eléctrodos de estimulação, esta teve a duração de 30 a 50 segundos após o início da sessão e não houve relação com o tipo de corrente utilizada na tsDCS.

As sessões foram intervaladas, pelo menos 1 semana em cada sujeito de modo a evitar o efeito cruzado (*crossed-effect*), em particular a influência de tsDCS com diferentes polaridades (Nitsche, Liebetanz, et al., 2003).



### 3.7| Métodos de avaliação – contributo neurofisiológico

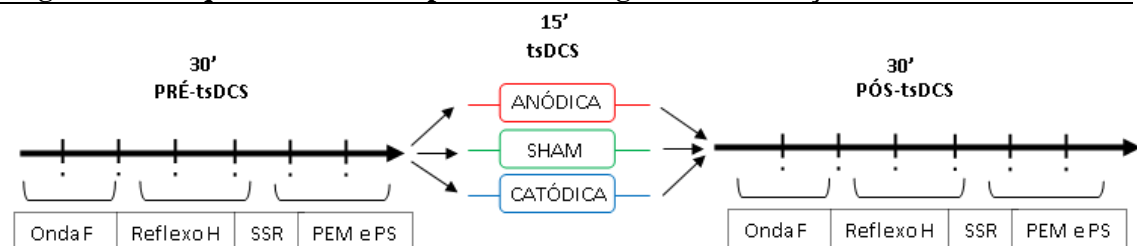
Por estimulação eléctrica (duração 0.2 ms) supramáxima, bilateral, do nervo tibial posterior atrás do maléolo interno com eléctrodo superficial bipolar foram obtidas a onda M (potencial de acção muscular composto - PAMC) do músculo abductor do hallux (AH) e as ondas F deste músculo, no lado direito. Por estimulação do nervo tibial posterior direito no escavado popliteu foi estudado o reflexo H do músculo solhar.

As respostas simpático-cutâneas (SSR) foram registadas na região plantar bilateralmente, após estimulação supramáxima, súbta, inesperada do nervo tibial posterior esquerdo atrás do maléolo interno e do nervo mediano esquerdo no punho, estando o sujeito em repouso e de olhos fechados, com ausência de ruído na sala.

A estimulação magnética transcraniana foi efectuada com uma bobina circular colocada sobre o vertex para estimulação do músculo tibial anterior direito (para determinação do período de silêncio cortical, PSc), e do músculo AH direito determinação do limiar motor, assim como da amplitude do potencial de resposta motora (PEM), da razão PEM/ PAMC e do tempo de condução central (com estímulos de intensidade 1.2 x limiar motor). O PSc foi calculado a partir do sinal convencional e do sinal rectificado.

Seguiu-se um modelo estatístico “cross-over” em que cada sujeito foi submetidos às 3 condições experimentais (antes e após intervenção) em diferentes dias (sessões) de forma randomizada (figura 3.5).

**Figura 3.5 - Esquema resumo do protocolo de registo e estimulação**



**Legenda:** Pré tsDCS – avaliação prévia à aplicação da tsDCS; Pós-tsDCS – Avaliação imediatamente após o fim da aplicação de tsDCS

Todos os registos eletrofisiológicos foram obtidos no membro inferior direito, excepto as respostas simpático-cutâneas (SSR) obtidas em ambos os membros inferiores.

### 3.7.1 | Protocolos de medidas de parâmetros neurofisiológicos

#### 3.7.1.2| Ondas M

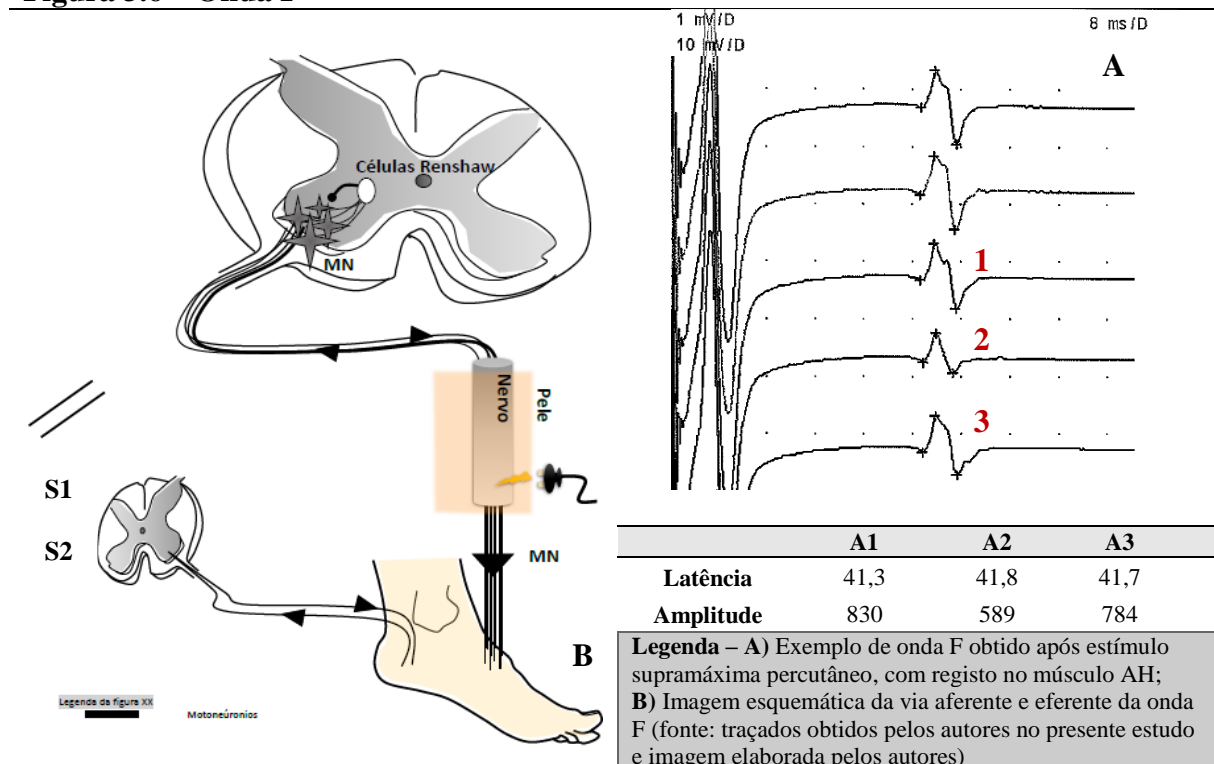
Na sequência da estimulação supra-máxima no nervo tibial posterior distalmente foi registada a Onda M e considerados os seguintes parâmetros da resposta: latência distal em ms (início da deflexão do pico negativo da linha de base), amplitude (pico-a-pico) em mV, duração do pico negativo em ms e área do pico negativo em mV/ms. O sinal foi filtrado com uma banda de 20Hz-10kHz

#### 3.7.1.3| Ondas F

Para estudo uma medida acessível e convencional da excitabilidade dos neurónios motores do corno anterior da medula foram estudadas as ondas F do músculo AH, que esclarece sobre a probabilidade de resposta recorrente em axónios individuais (Kimura, 1989).

Foram registadas 20 Ondas F do músculo AH direito (frequência de estimulação de 1 Hz) definidas como uma resposta bem definida com amplitude  $> 20\mu\text{V}$ , num traçado sem ruído ou artefacto, após a onda M (Fisher, 2007). Foi utilizada uma base temporal de 10 ms por divisão e sensibilidade 100-200  $\mu\text{V}$  por divisão, o sinal foi filtrado com uma banda de 20Hz-10kHz (figura 3.6)

**Figura 3.6 – Onda F**



As ondas F no *abductor hallucis* (AH) direito com a montagem descrita abaixo (Eisen & Fisher, 1999). (ver figura 3.7)

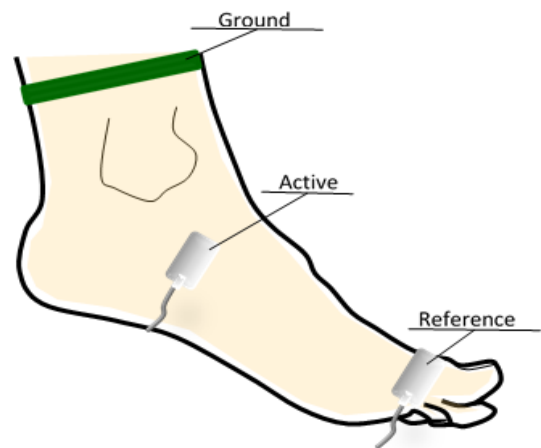
### Figura 3.7 – Montagem da onda F

**Electrodo activo:** 1 cm abaixo e 1 cm atrás do tubérculo navicular (lado interno do pé), no centro do músculo abdutor do hallux.

**Electrodo referênci**a: falange proximal do hallux

**Electrodo terra:** sobre a articulação tibio-társica

**Local de estimulação:** colocou-se o cátodo 1 cm posterior ao maléolo interno, distanciado 8-10 cm do eléctrodo de registo (apenas se realizou estimulação distal)



A

*Adaptado de (Kimura, 1989)*

**Legenda – A)** Desenho esquemático da montagem bipolar utilizada para o registo da onda F. Ground – Electrodo terra; Active – electrodo activo; reference - electrodo referência (fonte: imagem elaborada pelos autores)

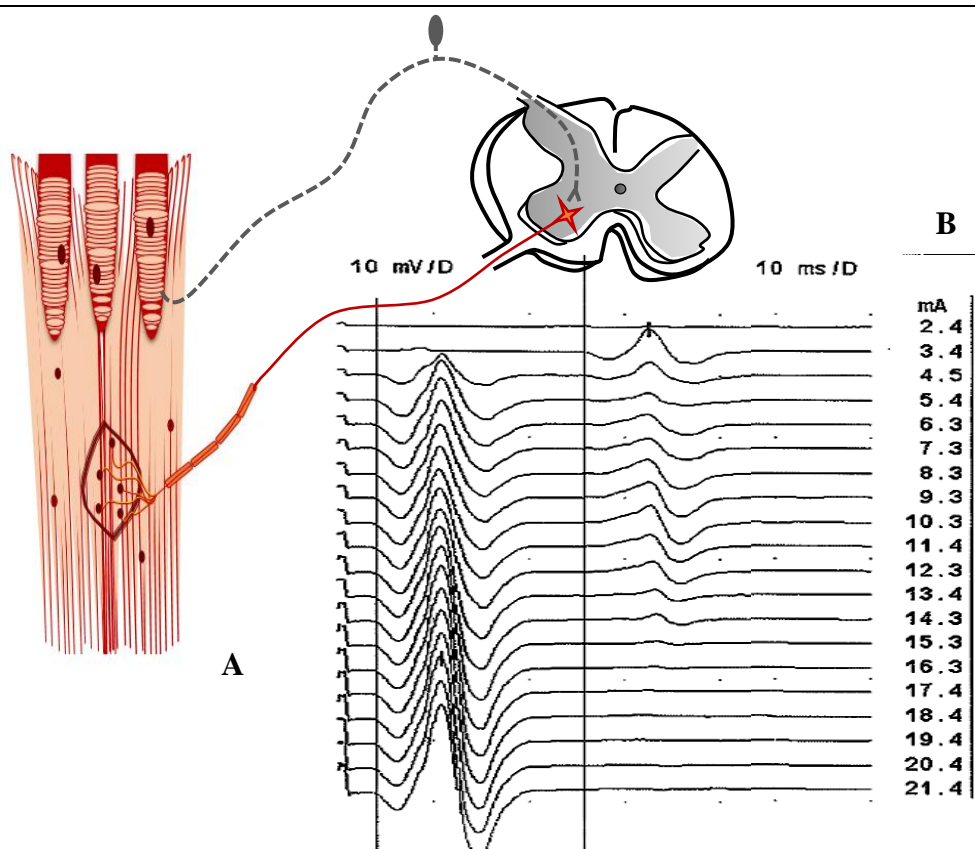
Foram considerados os seguintes parâmetros das 20 ondas F registadas em cada sujeito antes e após cada condição experimental: amplitude pico-a-pico e latências (determinadas pelo início da primeira deflexão da linha de base). Foram determinadas a amplitude média, a latência mínima, a latência média e a cronodispersão, ou seja, a diferença entre a latência máxima e a mínima (Panayiotopoulos, Scarpalezos, & Nastas, 1977).

### 3.7.1.4| Reflexo H

Para registo do reflexo H a montagem utilizada consistiu na colocação do eléctrodo de registo sobre o músculo solhar, no ponto intermédio da linha que une a eminência tibial anterior ao maléolo interno, e o eléctrodo de referência no tendão de Aquiles (Kimura, 1989). Foi utilizada uma base temporal de 10 ms por divisão e sensibilidade 100-1000  $\mu\text{V}$  por divisão, o sinal foi filtrado com uma banda de 20Hz-10kHz (figura 3.8). A frequência de estímulo foi inferior a 0.5 Hz de forma a evitar fenómenos de depressão pós-activação (Pierrot-Deseilligny & Burke, 2012) e a duração do estímulo de 1 ms de modo a maximizar a diferença nas propriedades excitatórias dos axónios motores e sensitivos (Lin, Chan, Pierrot-Deseilligny, & Burke, 2002).

Foram determinados os seguintes parâmetros, o limiar de resposta do reflexo H (intensidade mínima susceptível de elicitar uma resposta com um potencial de amplitude = ou > a  $100\mu\text{V}$ ); a latência da resposta de amplitude máxima do reflexo H, a relação entre esta resposta e a Onda M (razão  $H_{\text{máx}}/M_{\text{máx}}$ ), assim como a curva de recrutamento de reflexo H definido como o aumento de amplitude deste a sucessivos estímulos com incremento de 1mA a partir daquele definido como o limiar.

**Figura 3.8 – Reflexo H**

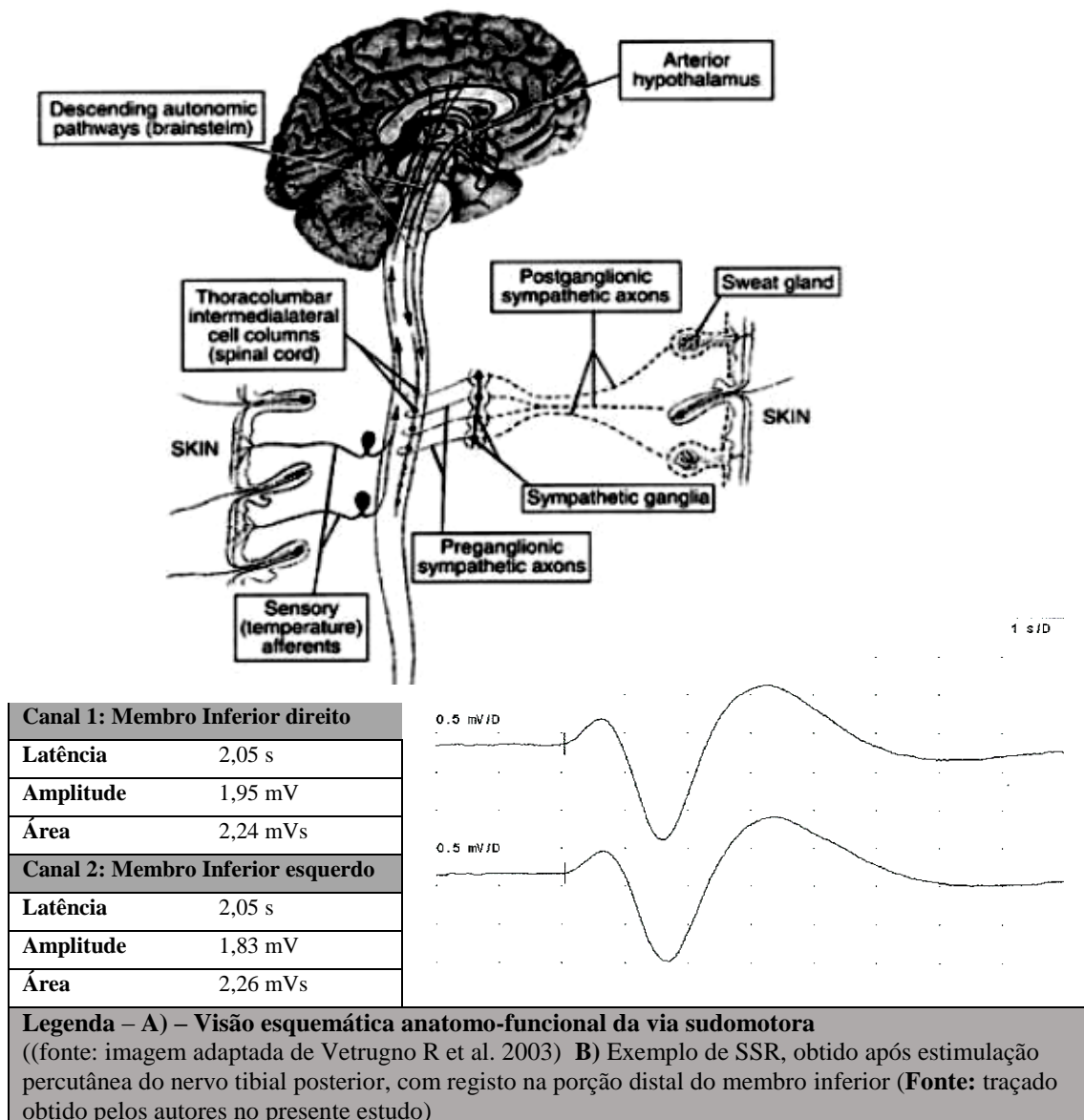


**Legenda – A)** Desenho esquemático da via do reflexo H (fonte: imagem elaborada pelos autores) **B)** Exemplo de reflexo H, obtido após estimulação percutânea do nervo tibial posterior, com registo no músculo solear (fonte: traçado obtido pelos autores no presente estudo)

### 3.7.1.5| Respostas simpático-cutâneas (SSR)

Após estimulação supramáxima distal do nervo tibial posterior e do nervo mediano esquerdos (duração 0.2 ms), as respostas foram registadas na região plantar, bilateralmente, regiões onde se verifica maior densidade de glândulas sudoríparas écrinas (Gutrecht, Suarez, & Denny, 1993), com o eléctrodo de referência na face dorsal dos pés (Zhu & Shen, 1988). Foi utilizada uma base temporal de 1 segundo por divisão, sensibilidade 200-500  $\mu$ V por divisão, o sinal foi filtrado com uma banda de 0.5Hz-4kHz (Kucera, Goldenberg, & Kurca, 2004). As latências foram definidas como o momento de início da resposta e a amplitude como o valor pico-a-pico. Foram estimadas a média das amplitudes da resposta e da latência (região plantar direita + esquerda/2) para cada estímulo. Apenas se considerou uma resposta após cada estímulo por forma a evitar o fenómeno da habituação.

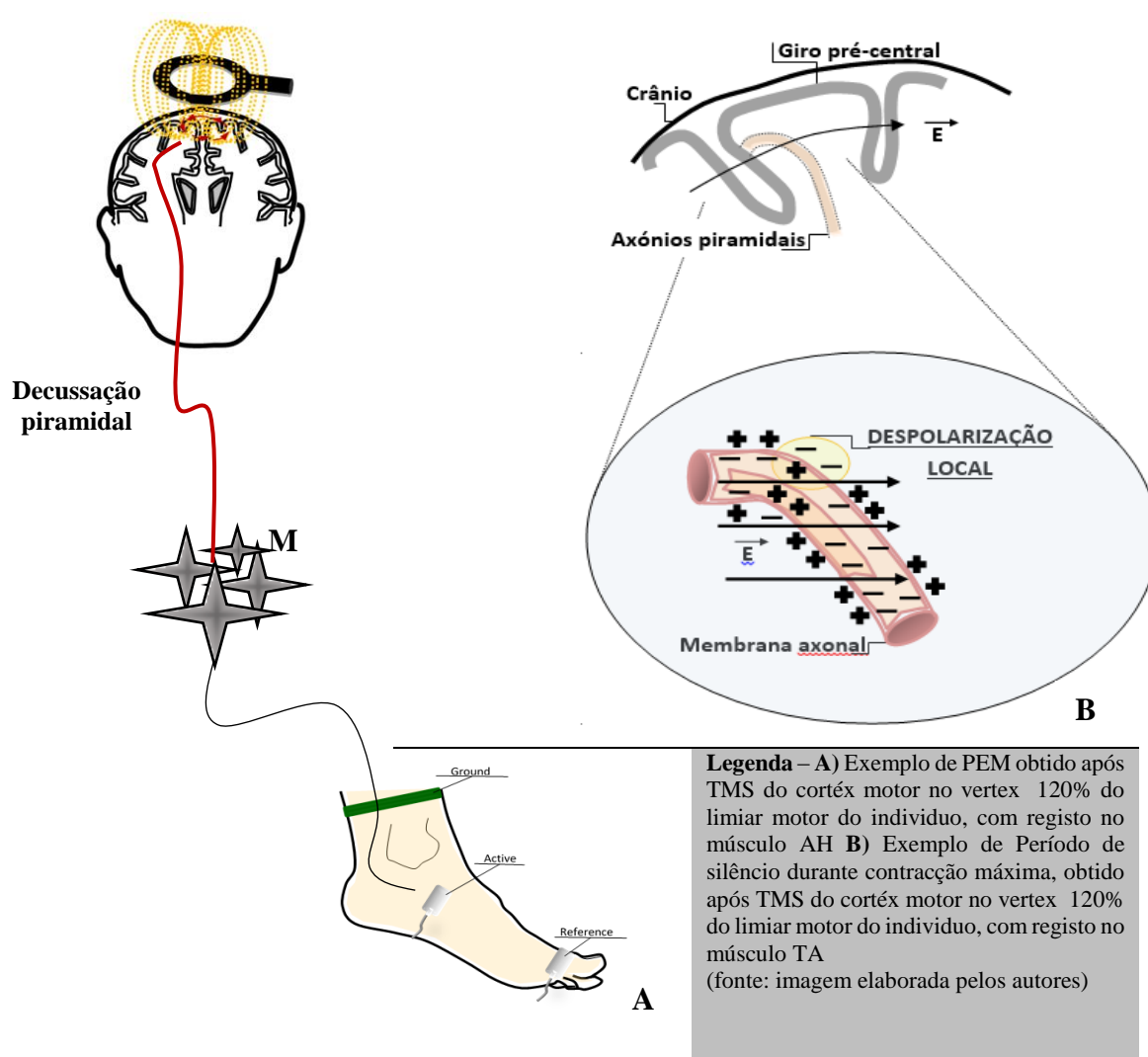
**Figura 3.9 – SSR**



### 3.7.1.6| Respostas obtidas por TMS

A estimulação magnética foi efectuada com uma bobina redonda colocada sobre o vertex craniano de forma a estimular o córtex motor do membro inferior. Para registo das respostas motoras no AH direito, os electrodos de registo estavam colocados conforme o definido para o registo da onda M e das Ondas F. Para registo do período de silêncio para o membro inferior, o eléctrodo activo foi colocado sobre a porção média do músculo tibial anterior direito, com o eléctrodo de referência sobre o tendão de inserção deste músculo no tornozelo. Os filtros utilizados foram aqueles já definidos para o registo das respostas motoras.

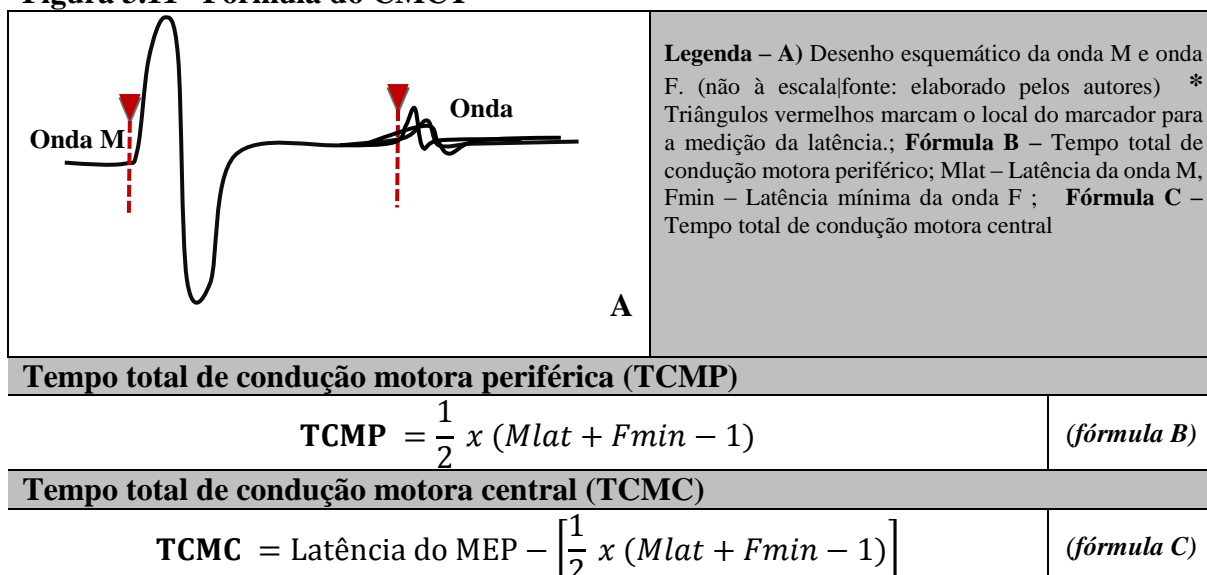
Imagem 3.10 – TMS



Neste estudo foi considerado o limiar de excitabilidade motora do córtex, tal como definido pela *International Federation of Clinical Neurophysiology* (IFCN) – a menor intensidade de estímulo necessária para elicitar respostas motoras com amplitude = ou > a 50  $\mu$ V (amplitude pico-a-pico)

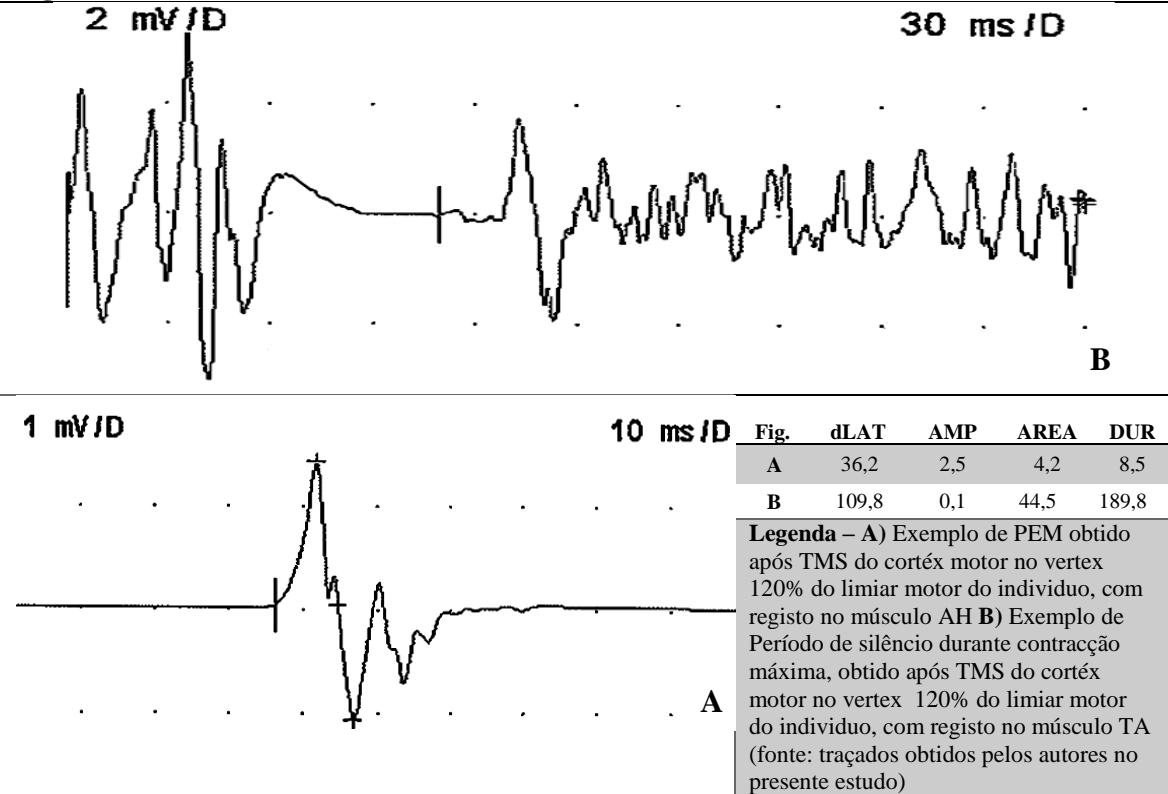
em pelo menos 5 de 10 estímulos (Rossini et al., 1994, 2015). Após determinação do limiar, a intensidade foi aumentada para 20% acima do limiar e 10 estímulos transcranianos foram aplicados para determinação das respostas motoras no AH direito. Os parâmetros definidos foram: amplitude motora e a latência do potencial motor. A amplitude do PEM foi expressa como a amplitude pico-a-pico (Rossini et al., 2015; Rothwell et al., 1987), e determinada a razão entre a amplitude da onda M e a amplitude da resposta por estimulação cortical. A identificação das latências dos PEMs permitiu o cálculo do tempo de condução motora central (TCMC), por subtração da latência total pelo tempo de condução motora periférica (TCMP), definido pelas latências das ondas M e F) (Kimura, 1989) – figura 3.11.

**Figura 3.11 –Fórmula do CMCT**

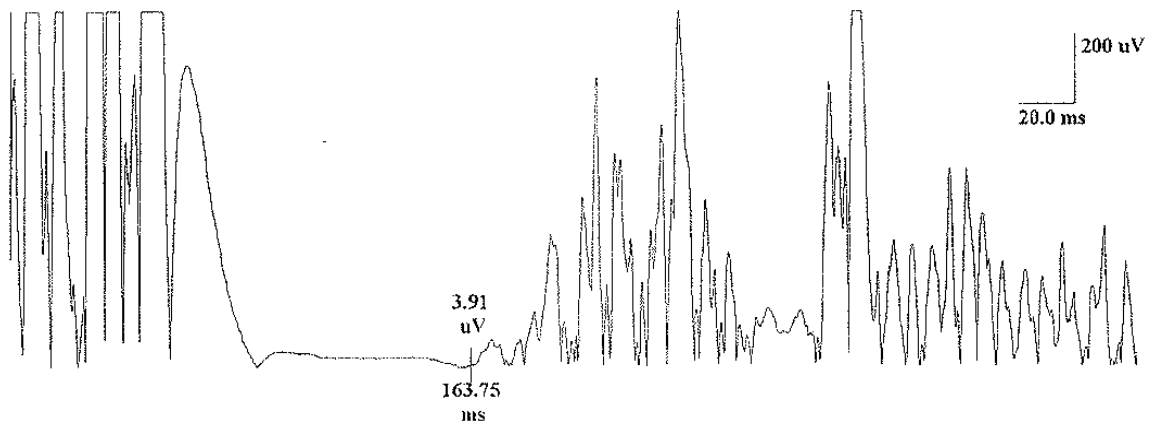


No nosso estudo a determinação do PSc no músculo tibial anterior (grau de contração aproximado de 50-70% da força máxima e controlado pelo sinal eléctrico no equipamento e pelo sistema audio) foi efectuada após 20 estímulos irregulares (frequência < 0.1Hz) com intensidade = 1.2 x limiar. Os PSCs foram calculados através dos dois métodos recomendados por Groppa et al., 2012. Ou seja, 10 estímulos foram analisados como o tempo entre o artefacto de estímulo e o reinício da actividade eléctrica muscular com o sinal convencional (amplitude sinal > 50µV para definir actividade muscular). Outros 10 estímulos foram analisados como o tempo entre o artefacto de estímulo e o reinício da actividade eléctrica muscular com o sinal rectificado – figura 3.12. Foi considerado o valor médio em cada método.

**Figura 3.12 – PEM e PS**



**Figura 3.13 – Exemplo de Período de silêncio rectificado**



**Legenda – A)** Exemplo de Período de silêncio durante contração máxima, obtido após TMS do córtex motor no vertex 120% do limiar motor do indivíduo, com registo no músculo TA (fonte: traçado obtido pelos autores no presente estudo)



## **3.8| Análise Estatística**

### **3.8.1| A abordagem descritiva**

Foi feita abordagem exploratória gráfica e analítica aos dados pelo uso de gráficos de barras, *boxplots*, histogramas, diagramas de dispersão, da estatística descritiva, e pela análise do coeficiente de assimetria, consoante a questão de investigação subjacente e as variáveis em estudo.

### **3.8.2| A abordagem inferencial**

Para testar as condições de aplicação do teste t-Student e do ANOVA para comparação de valores médios foram usados o teste de normalidade Shapiro-Wilks e o teste de igualdade de variâncias de Levene, com um nível de significância de 5%. Quando não se verificaram estes pressupostos optou-se pelos testes não-paramétricos, Wilcoxon e Kruskal-Wallis.

As comparações múltiplas foram ajustadas com recurso à correcção de Bonferroni.

O nível de significância utilizado foi de 5%, contudo, valores do valor-p entre 5.0% e 10.0% foram considerados *borderline* e assinalados nos quadros resumo, sendo apenas referidos em texto quando a significância clínica o justificou.

Todo o tratamento estatístico foi realizado com recurso ao *software* estatístico para tratamento de dados: IBM® SPSS® versão 22.0.

## 4| RESULTADOS

Todos os dados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão quando seguem a normalidade, e mediana [desvio interquartil] quando esta não se verifica.

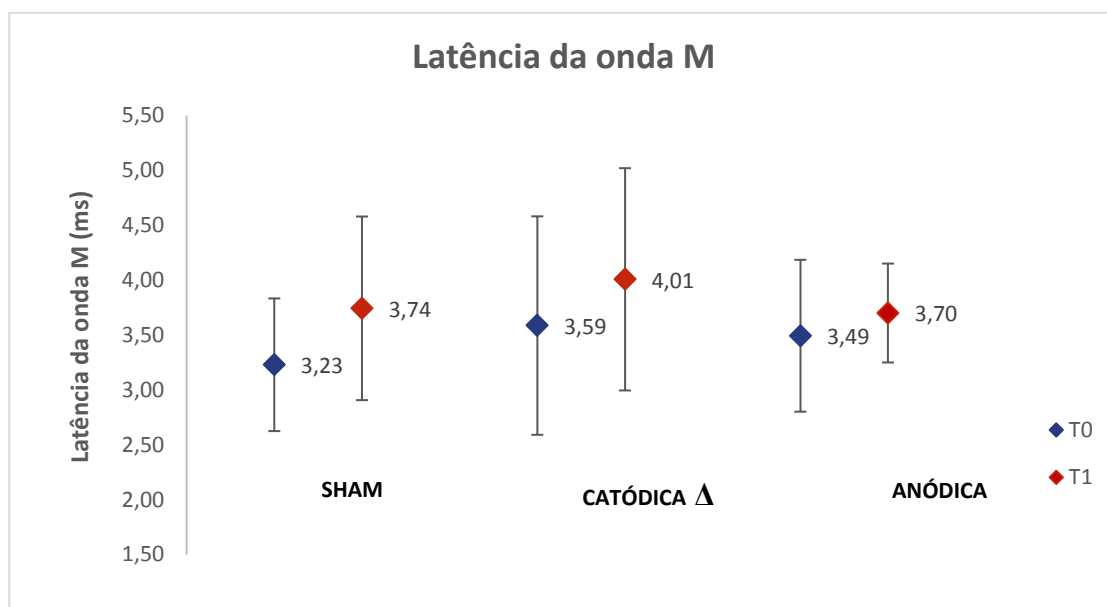
Os resultados são apresentados pela ordem de aquisição dos parâmetros neurofisiológicos.

### 4.1| Análise exploratória

#### 4.1.1| Onda M

Os parâmetros neurofisiológicos foram obtidos duas vezes (momento T0 e T1), em cada sessão. Registou-se a latência, a amplitude, a duração e a área do PAMC.

Após o protocolo de aplicação de tsDCS catódica verificou-se um aumento médio da latência distal de 0,58 segundos (c-tsDCS t0:  $3,59 \pm 0,27$  e c-tsDCS t1:  $4,01 \pm 0,27$ ), com um valor de  $p=0,013$  obtido através do teste não-paramétrico Wilcoxon, mas com um valor de  $p$  corrigido não significativo (0,156) (Figura 4.1). Relativamente aos restantes parâmetros nenhuma alteração significativa foi identificada ( $p>0,05$ ).

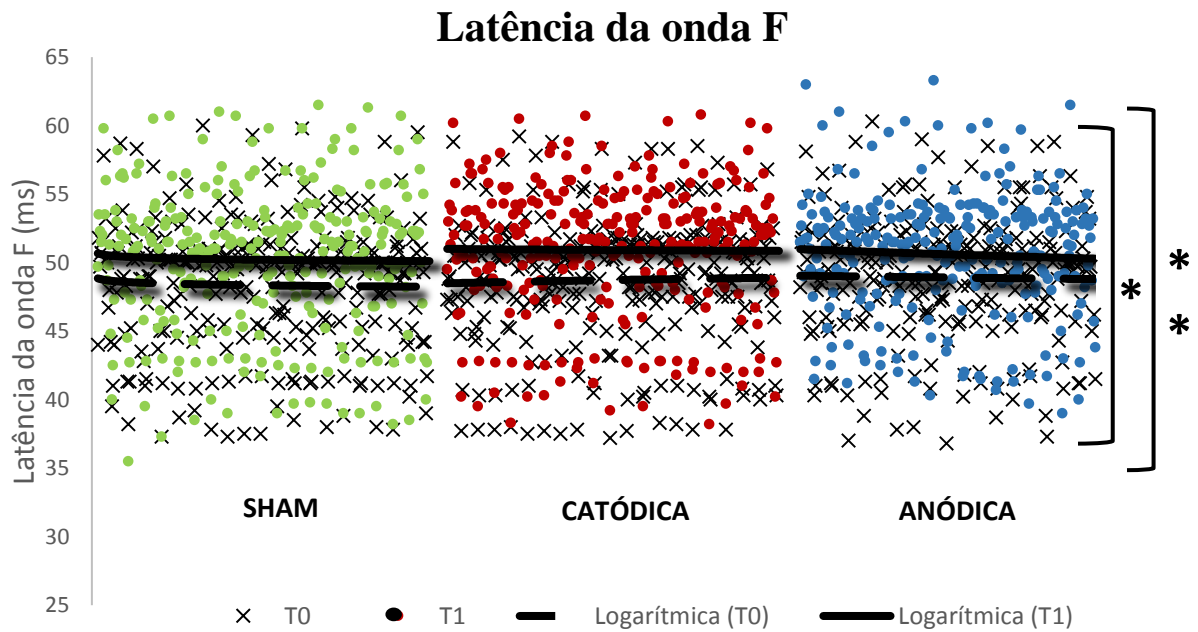


**Figura 4.1** – Latência da onda M: o tempo de condução periférica desde do local de estímulo ao de registo, no momento t0 e em t1, após a aplicação dos diferentes protocolos tsDCS. Os dados estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão; \*  $p < 0,05$  em relação t1 ao t0 com teste-t para 2 amostras emparelhadas e Wilcoxon ( $\Delta$ ). (Sham – grupo de tsDCS negligenciável; Anódica – grupo da aplicação de tsDCS anódica;  $\Delta$  Catódica – grupo da aplicação de tsDCS catódica; N=14 em todos os grupos)

### 4.1.2| Onda F

Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas comparando os três tipos de estimulação (placebo, catódica e anódica), relativamente à amplitude, latências mínimas, médias e cronodispersão.

No entanto, independentemente do tipo de intervenção (placebo, catódica e anódica), as latências médias das ondas F aumentaram significativamente em t1 quando comparando com t0 (registro basal), tal como as latências mínimas na estimulação activa catódica ou anódica (Ver Figura 4.2 e tabela 4.1) .



**Figura 4.2** – Latência das ondas F, no momento t0 e em t1, após a aplicação dos diferentes protocolos tsDCS; \*\*  $p < 0.001$  em relação t1 ao t0 com teste-t para 2 amostras emparelhadas. (Sham – grupo de tsDCS negligenciável; Anódica – grupo da aplicação de tsDCS anódica; Catódica – grupo da aplicação de tsDCS catódica; N=14 em todos os grupos)

**TABELA 4.1– Análise descritiva e inferencial da Latência mínima, média da onda F antes e após estimulação tsDC**

Variável	Grupo	Resultados		Valor de p	Correcção de Bonferonni
		T0	T1		
<b>Latência mínima da onda F</b>	<b>Sham</b>	47,49± 1,33	46,01± 1,28	<b>0,000651</b>	<b>0,007812*</b>
	<b>Anódica</b>	46,24± 1,28	48,44± 1,20	<b>0,000468</b>	<b>0,005616*</b>
	<b>Catódica</b>	45,47± 1,11	47,69± 1,07	<b>0,00464</b>	<b>0,05568</b>
<b>Latência média da onda F</b>	<b>Sham</b>	48,38± 1,28	50,24± 1,38	<b>0,000001</b>	<b>0,000012**</b>
	<b>Anódica</b>	51,84± 1,30	53,53± 1,42	<b>0,000003</b>	<b>0,000036**</b>
	<b>Catódica</b>	51,84± 1,40	54,11± 1,52	<b>0,000005</b>	<b>0,00006**</b>

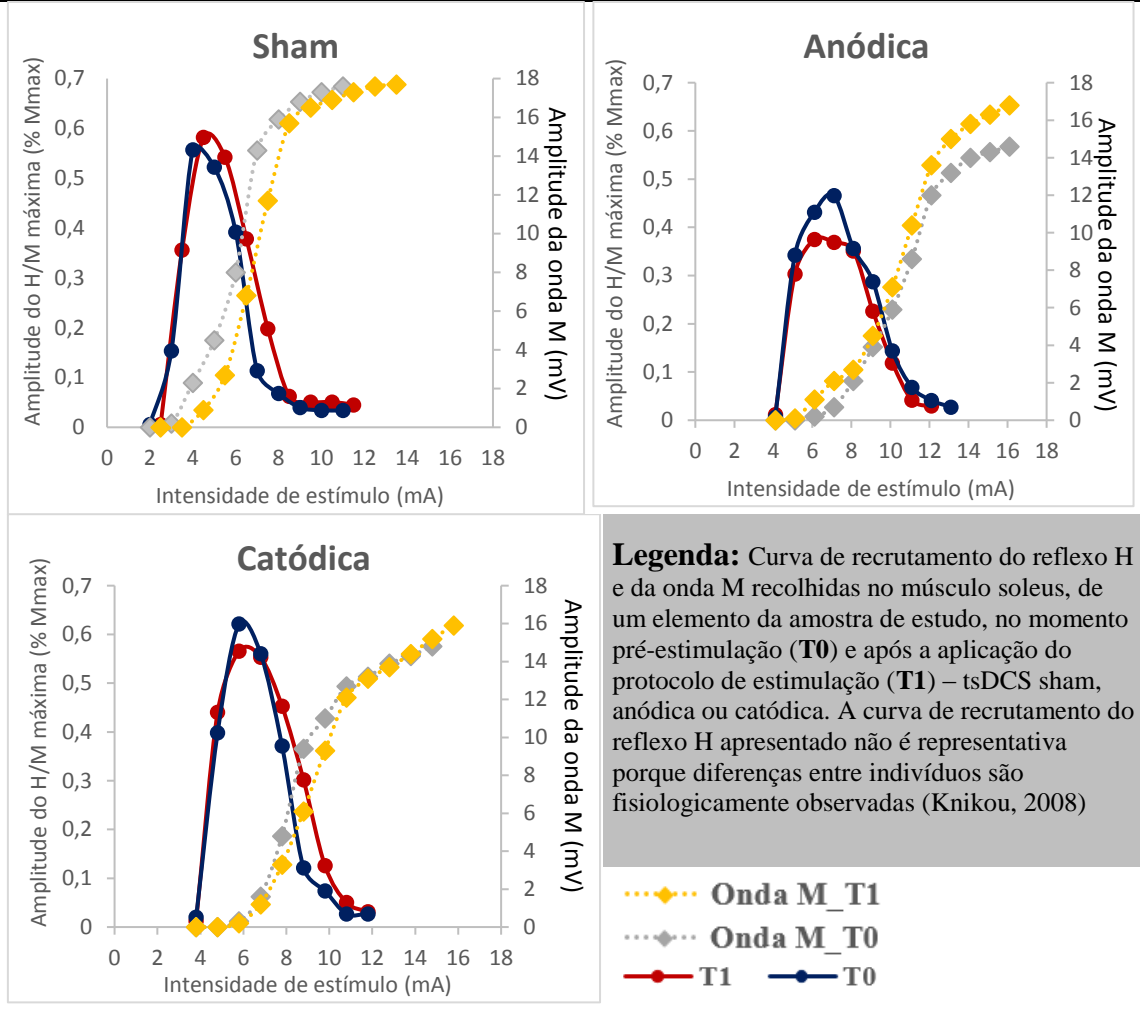
**Legenda:** Latência das ondas F - o tempo de condução mínimo, a média das respostas da resposta F obtidas no momento t0 e em t1, após a aplicação dos diferentes protocolos tsDCS. Dados estão expressos em média±dp e mediana [desvio interquartis]; \* p< 0.05 e \*\* p< 0.001 em relação t1 ao t0 com teste-t para 2 amostras emparelhadas e Wilcoxon (Δ). (Sham – grupo de tsDCS negligenciável; Anódica – grupo da aplicação de tsDCS anódica; Catódica–grupo da aplicação de tsDCS catódica; N=14 em todos os grupos)

A cronodispersão não foi significativamente influenciada por qualquer intervenção.

### 4.1.3| Reflexo H

Não se verificaram diferenças estatísticas entre o momento T0 e T1 para as variáveis: limiar do reflexo H, latência do reflexo H máximo e razão H/M (tabelas em anexo). O mesmo sucedeu com as curvas de recrutamento do reflexo H, nas quais nenhuma intervenção alterou as suas características (ver figura 4.3).

**Figura 4.3 - Curva de recrutamento do Reflexo H e M**

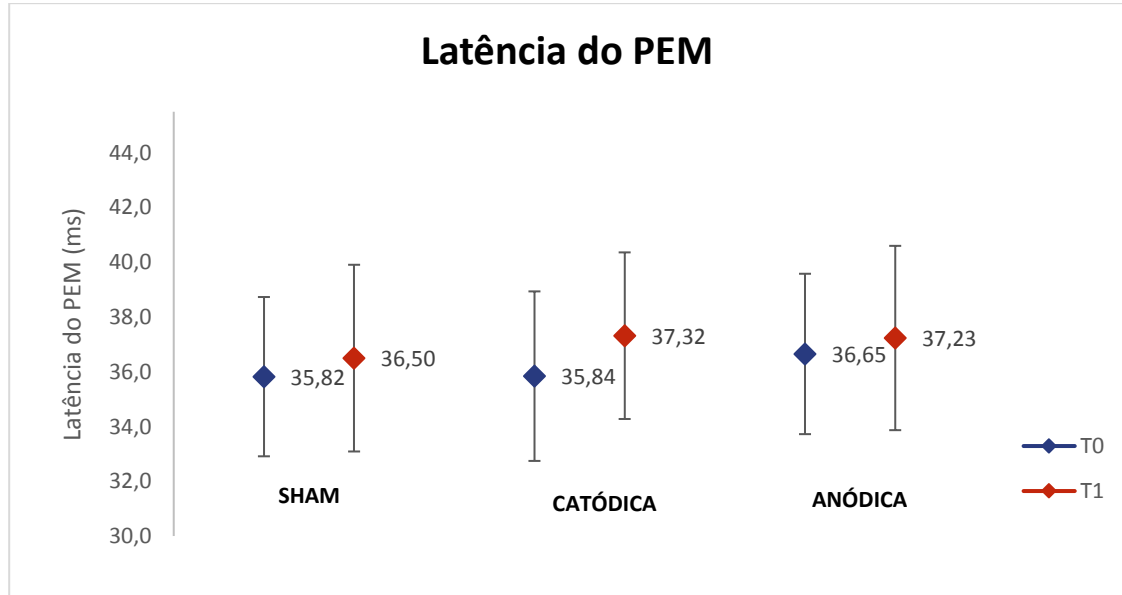


#### 4.1.4| TMS

##### 4.1.4.1| Potencial evocado motor

Verifica-se um aumento da latência média do PEM após estimulação anódica e catódica, com valores de  $p= 0,021$  e  $p= 0,005$ , respectivamente. O aumento da latência corresponde a um aumento de 1,61 milissegundos, para a corrente catódica (c-tsDCS t0:  $35,84 \pm 0,75$  e com mediana de 36,44 [30,22-40,19] c-tsDCS t1:  $37,45 \pm 0,79$  e com mediana de 37,80 [30,87-40,78]) e 1,58 milissegundos após anódica (a-tsDCS t0:  $36,65 \pm 0,76$  com mediana de 36,91 [30,80-41,10] e a-tsDCS t1:  $37,23 \pm 0,83$  e 37,60 [30,71-40,64] ms de mediana) (Figura 4.4). Mas com a correção de Bonferonni obteve-se valores de p corrigidos de 0,252 e de 0,06 para a estimulação anódica e catódica, respectivamente. Não se verificou diferenças estatísticas para as variáveis latência mínima, amplitude média do PEM e razão PEMamplitude/Mamplitude.

A aplicação de tsDCS anódica reduziu o tempo de condução motora central, do valor médio inicial de  $10,73 \pm 0,24$ ms passou para  $9,40 \pm 0,61$  ms ( $p= 0,023$ ), calculado pela latência mínima do PEM, como é habitual. Contudo, o valor de p corrigido não é significativo (0,276). Utilizando o valor médio da latência do PEM persiste esta tendência ( $p= 0,060$ ), o que reflecte a redução de 0,62 milissegundos (Figura 4.4).



**FIGURA 4.4** – Latência média do PEM obtido, no momento t0 e em t1, após a aplicação dos diferentes protocolos tsDCS. Dados estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão; \*  $p < 0.05$  em relação t1 ao t0 com teste-t para 2 amostras emparelhadas. (Sham – grupo de tsDCS negligenciável; Anódica – grupo da aplicação de tsDCS anódica; Catódica – grupo da aplicação de tsDCS catódica; N=14 em todos os grupos)

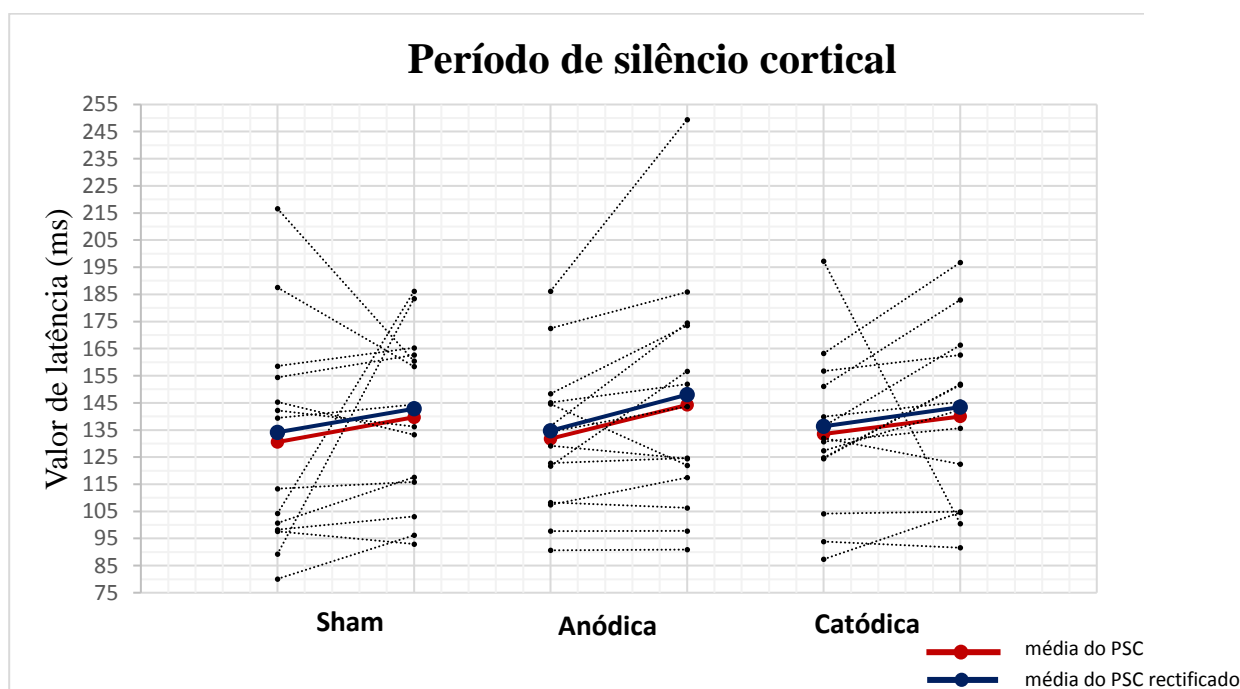
**TABELA 4.2– Análise descritiva e inferencial da Latência média do PEM antes e após estimulação tsDC**

Variável	Grupo	Resultados		Valor de p	Correcção de Bonferonni
		T0	T1		
Latência média do PEM	Sham	35,82± 2,62	36,50± 3,29	<b>0,058150</b>	-
	Anódica	36,65± 3,29	37,22± 3,10	<b>0,020964*</b>	0,251568
	Catódica	35,84± 2,82	37,45± 2,96	<b>0,005478*</b>	0,065736

**Legenda:** Latência média do PEM – o tempo de condução mínimo, a média das respostas da resposta F obtidas, no momento t0 e em t1, após a aplicação dos diferentes protocolos tsDCS. Dados estão expressos em média±dp;\* p< 0.05 e \*\* p< 0.001 em relação t1 ao t0 com teste-t para 2 amostras emparelhadas e Wilcoxon (Δ). (Sham – grupo de tsDCS negligenciável; Anódica – grupo da aplicação de tsDCS anódica; Catódica–grupo da aplicação de tsDCS catódica; N=14 em todos os grupos)

#### 4.1.4.2| Período de silêncio cortical

Em geral, parece existir um aumento da duração do período de silêncio cortical após aplicação da tsDCS efectiva e Sham. Este aumento não é estatisticamente significativo quando comparado antes e depois da tsDCS (Figura 4.5).



**Figura 4.5 – Período de silêncio cortical, por indivíduo e média de grupo, no momento t0 e em t1, após a aplicação dos diferentes protocolos tsDCS. Dados estão expressos em média ± desvio padrão; (Sham – grupo de tsDCS negligenciável; Anódica – grupo da aplicação de tsDCS anódica; Catódica – grupo da aplicação de tsDCS catódica; N=14 em todos os grupos)**

#### 4.1.5| SSR

Não se verificou diferenças estatísticas para as latências e amplitudes das SSR, antes e depois de qualquer intervenção (ver tabela 4.3).

**TABELA 4.3– Análise descritiva e inferencial da Latência média e da amplitude das SSRM antes e após estimulação tsDC**

Variável	Grupo	Resultados		Valor de p	Correcção de Bonferonni
		T0	T1		
Latência média da SSR	Sham	1833,93± 293,90	2130,71± 523,5	<b>0,058150</b>	-
	Anódica	1965,38± 201,02	2121,92± 292,99	<b>0,009633 Δ</b>	0,087
	Catódica	1775,00± 306,70	2205,71± 442,11	<b>0,006781</b>	0,061
Amplitude média da SSR	Sham	1529,47 ± 219,2	1023,43± 132,42	<b>0,044998</b>	0,405
	Anódica	990,69±158,10	796,90 ± 88,65	<b>0,256839</b>	-
	Catódica	1049,10± 112,48	1146,17± 249,0	<b>0,645758</b>	-

**Legenda:** Latência e Amplitude média da resposta simpático-cutânea (SSR) após estimulação do nervo tibial posterior e obtida, no momento t0 e em t1, após a aplicação dos diferentes protocolos tsDCS. Dados estão expressos em média±dp e mediana [desvio interquartis]; \* p< 0.05 e \*\* p< 0.001 em relação T1 ao T0 com teste-t para 2 amostras emparelhadas e Wilcoxon (Δ). (Sham – grupo de tsDCS negligenciável; Anódica – grupo da aplicação de tsDCS anódica; Catódica–grupo da aplicação de tsDCS catódica; N=14 em todos os grupos)



## 5| DISCUSSÃO

---

Este estudo debruçou-se sobre o potencial efeito da aplicação da tsDCS de diferente polaridade e durante 15 minutos sobre os circuitos medulares da região lombar envolvidos na via motora, incluindo eventual impacto na função radicular.

O nosso estudo seguiu um desenho *cross-over*, sendo que o neurofisiologista que efectuou as várias técnicas estava cego para o tipo de estimulação efectuada. Neste, o método consistiu na aplicação de uma corrente eléctrica percutânea, anódica ou catódica, ou neutra (*sham*), sobre a região lombar, durante 15 minutos, com uma intensidade de 2.5mA. No global, no nosso estudo, não foi verificada nenhuma alteração dos parâmetros investigados. A técnica foi bem tolerada, nenhum sujeito ficou incomodado com os sintomas locais a ponto de não aceitar colaborar nas sessões seguintes do protocolo experimental. O único sinal observado foi um rubor local transitório, sob o eléctrodo activo, que não requereu tratamento, para além da aplicação de um creme hidratante.

Neste estudo vários parâmetros foram estudados, por representarem sinais que avaliam a excitabilidade do neurónio motor, potencialmente modulável pela intervenção efectuada.

### **5.1| tsDCS – Efeitos nas técnicas neurofisiológicas**

#### **5.1.1| Ondas F**

A Onda F (uma resposta neurofisiológica tardia, i.e. após a onda M) foi pela primeira vez descrita em 1950 por Magladery & McDougal durante o estudo dos pequenos músculos do pé (F=“*foot*”) (Magladery & McDougal, 1950) após aplicação de um estímulo supramáximo. Este estímulo percorre centriptamente o nervo periférico até à medula espinal onde reactiva um pequeno número de células do corno anterior (“*backfiring*”) resultando em posterior propagação periférica do potencial de acção assim gerado de forma a despolarizar algumas unidades motoras (Eisen & Odusote, 1979; Kimura, 1989; Eisen & Fisher, 1999). Esta reactivação limitada a alguns neurónios motores do corno anterior da medula pensa-se que ocorra devido a distintas propriedades da membrana no segmento inicial dos axónios (*axon hillock*) levando ao bloqueio do impulso, sempre que este segmento ainda esteja hiperpolarizado (Eisen & Odusote, 1979; Kimura, 1989). Assim, podemos especular que a modulação eléctrica sobre as propriedades do cone axonal poderia alterar as características dos neurónios motores medulares susceptíveis de serem excitados, com repercussão na latência das respostas.

As Ondas F podem sofrer de modulação cortical, nomeadamente pela via cortico-espinal. Exemplo disso, é a redução da sua persistência num estado fisiológico de imobilidade (Fujisawa et al., 2011) como também na fase aguda da lesão cortico-espinal, em relação com a hipotonia muscular. Por outro lado, nos casos de lesão crónica da via cortico-espinal, podemos verificar maior frequência da resposta das ondas F (Fisher, 1992). Na esclerose lateral amiotrófica os neurónios motores sobreviventes tendem a ter maior frequência de resposta ao estímulo periférico nos casos com sinais clínicos de lesão da via piramidal (de Carvalho et al., 2002).

São esparsos os dados sobre a influência da tsDCS nas características das Ondas F, num estudo recente com aplicação de tsDCS sobre T10 durante 20 minutos, com intensidade de 2,5 mA, com o eléctrodo de retorno sobre o deltoide direito, não se observou alterações nas latências das Ondas F (Bocci et al., 2015). Desta forma pareceu-nos oportuno estudar de forma sistemática o impacto da tsDCS sobre a amplitude e as latências das Ondas F, após excitação anódica e catódica com o electrodo activo colocado sobre a medula lombo-sagrada. Nos nossos resultados, o impacto sobre a amplitude foi nulo. Por outro lado, embora as latências médias aumentassem significativamente (cerca de 2 ms) entre T0 e T1 de cada sessão, tal foi independente do tipo de intervenção efectuada (anódica, catódica ou placebo/*sham*). Não houve efeito sobre a cronodispersão.

Para explicar esta observação, consideramos 3 hipóteses de trabalho.

#### Hipótese posicional

Podemos assumir, como explicação do aumento das latências das Ondas F, a compressão de troncos nervosos periféricos, quer por um mecanismo directo de compressão mecânica dos axónios, quer por isquémia pela compressão de vasos que irrigam o nervo, ou pela combinação de ambos os fenómenos (Daube & Mauguière, 2006; Seddon, 1943; Sunderland, 1968). Sabemos que a isquémia pode condicionar um aumento da latência distal ao local da compressão (Yates, Hurst, & Brown, 1981).

Contudo, no nosso estudo, a onda F foi investigada no nervo tibial posterior. Este nervo periférico tem origem nos ramos anteriores das raízes L5, S1 e S2. Ao nível da fossa poplíteia, as artérias perfurantes formam uma rica rede anastomótica arterial que o irriga. Estas características estruturais garantem uma maior resistência à isquémia e tornam-no menos susceptível a fenómenos de pressão e de estiramento comparativamente a outros nervos (Ugrenović et al., 2014). Os sujeitos da amostra estavam confortavelmente posicionados numa poltrona reclinável. Tendo em conta que as fibras sensitivas são as mais susceptíveis ao efeito da compressão (Sunderland, 1968) é de notar que nenhum indivíduo referiu qualquer sintoma sensitivo, como parestesias, que indicassem eventual compressão. Finalmente, a ausência de alteração nas latências do reflexo H, nas mesmas circunstâncias, tornam esta hipótese improvável.

### Hipótese da redução da temperatura

Apesar das medidas preventivas aplicadas (ver métodos) não foi possível garantir uma constante temperatura cutânea distal do membro inferior em repouso. Baseado numa amostra aleatória estimamos a redução da temperatura cutânea em cerca de 1,8°C durante a imobilização de cerca de 90 minutos, o que correspondeu a um aumento da média das latências das ondas F em cerca de 2 milissegundos.

É conhecida a influência da variação da temperatura no funcionamento dos canais e nas bombas iónicas (Bostock, Cikurel, & Burke, 1998). A redução da temperatura condiciona uma abertura mais lenta dos canais de sódio e um atraso na sua inactivação. Assim, temperaturas baixas têm como efeito uma despolarização mais lenta e o prolongamento do período refractário (Burke, Mogyoros, Vagg, & Kiernan, 1999). Como tal, a morfologia dos potenciais altera-se com a redução da temperatura, observando-se um aumento da amplitude, da duração da resposta e das latências, com redução das velocidades de condução (Buchthal & Rosenfalck, 1966; Kimura, 1989). Sabemos que a velocidade de condução do nervo tibial posterior reduz-se em média 1,1 m/s por cada grau Celsius da temperatura da pele (Halar, DeLisa, & Brozovich, 1980).

Como supomos que a redução da temperatura apenas ocorreu no segmento distal (não sendo plausível que tivesse ocorrido no trajecto do nervo na região posterior da coxa apoiada na poltrona nem na cavidade pélvica), podemos estimar que havendo uma redução da velocidade de condução do nervo tibial posterior de 2°C nos seus últimos 50 cm (superior à distância entre o escavado popliteu e o músculo AH nos indivíduos recrutados) e sendo a velocidade média de 50m/s, haveria um aumento da latência entre o escavado popliteu e o AH de 10 ms para 10.7 ms. Ou seja, um aumento da latência da Onda F de 1.4 ms (0.7 ms na transmissão antidrómica + 0.7 ms na transmissão ortodrómica). No entanto este valor é inferior aos 2 ms observados de aumento médio das latências das Ondas F. Por outro lado, quer a latência distal da onda M (o segmento mais afectado pela redução da temperatura) quer as latências do reflexo H não foram afectados, o que também torna esta explicação pouco sólida.

Finalmente, a amplitude das ondas F não foram afectadas, como seria expectável teoricamente pela redução da temperatura caso esta tivesse sido significativa.

### Hipótese da imobilização

Em hipótese alternativa, sugerimos que o aumento médio da latência das ondas F em 2 ms possa reflectir a redução da excitabilidade dos neurónios motores medulares devido à imobilidade, durante 90 minutos, do membro estudado. Esta hipótese poderá ser sustentada por fenómenos decorrentes da fisiologia medular ou pela alteração/redução do *input* cortical para os próprios

neurónios motores espinhais e/ou para os interneurónios com uma relação monossináptica com os anteriores (p.e células de Renshaw).

Do ponto de vista da fisiologia medular, a informação consciente proprioceptiva é obtida pela activação dos corpúsculos de Paccini, fusos musculares e órgãos tendinosos. Nos cordões posteriores estes feixes vão dividir-se nos ramos descendentes (curtos) e nos ramos ascendentes. Estes ramos descendentes, envolvidos em reflexos intersegmentares espinais, enviam colaterais que estabelecem sinapses com células do corno posterior da medula, com interneurónios e com células do corno anterior da medula (Snell, 2010). Dado o longo período das sessões do nosso estudo, parece-nos plausível a possibilidade que uma menor activação dos receptores proprioceptivos possa causar uma menor excitabilidade dos neurónios motores espinais.

A nível cortical, é conhecido que após um movimento, o máximo da ERS (sincronia de uma dada população de neurónios - *event-related synchronization*) (Pfurtscheller, 1992) na banda beta é coincidente com a redução da excitabilidade dos neurónios do córtex motor (Chen, Yaseen, & Hallett, 1998) e/ou da excitabilidade corticoespinhal (Pfurtscheller & Lopes, 1999). Este fenómeno tem sido demonstrado estar menos dependente do *input* aferente proprioceptivo e cutâneo e em maior associação com a prévia activação da área motora (Pfurtscheller, Stancák Jr, & Neuper, 1996). O fim do movimento representa assim, uma diminuição da excitabilidade cortical por redução das actividade neuronal, suportando a hipótese deste evento estar relacionado com um estado de desfacilitação/desactivação do córtex motor (Pfurtscheller & Lopes, 1999). Tal fenómeno poderá ser observado pela simulação mental de movimento (Fadiga et al., 1998). A imobilização da mão causa uma diminuição do ERD (desincronização de uma população de neurónios - *event-related desynchronization*) e aumento do ERS (Pfurtscheller & Neuper, 1997). A TMS evidencia que a imobilização condiciona um aumento significativo do limiar motor na área cortical contralateral, sugerindo uma diminuição na excitabilidade cortical. No entanto, no nosso estudo, a avaliação da excitabilidade cortical com a TMS não demonstrou alterações significativas do limiar de excitabilidade cortical, do tempo de condução central ou das amplitudes das respostas motoras, não confirmando alterações da excitabilidade cortical. Adicionalmente, não foram observadas alterações da amplitude das Ondas F (ou da razão  $M_{\text{amplitude}}/F_{\text{amplitude}}$ ), nem do limiar do reflexo H ou da razão  $H_{\text{máx}}/M_{\text{máx}}$ , pelo que não podemos ser conclusivos a favor de uma redução da excitabilidade do *pool* neuronal espinal (Funase, Imanaka, & Nishihira, 1994).

Motoneurónios de menores dimensões e de menor limiar apresentam uma maior probabilidade de bloqueio no cone axonal, o que favorece uma resposta preferencial ao estímulo antidrómico dos neurónios de maior volume e de maior limiar, estando assim predominantemente envolvidos nas

Ondas F (Henneman, Somjen, & Carpenter, 1964). Para além do descrito, acredita-se que outros mecanismos fisiológicos possam favorecer a resposta dos neurónios de maior volume (Kimura, 1989). Tal pode, também, resultar do facto de as células de Renshaw inibirem de forma mais efectiva os menores neurónios motores, visto a inibição recorrente ser maior em neurónios motores com longa duração do período de post-hiperpolarização – *afterhyperpolarization* (J. C. Eccles, Eccles, Iggo, & Ito, 1961; Enoka, 2008).

A partir do acima descrito especulamos que uma redução da excitabilidade das células de Renshaw por um menor *input* descendente para estas células poderá condicionar uma resposta preferencial dos neurónios motores de menor volume aos “voleys” motores periféricos antidrómicos, dando assim origem a Ondas F de maior latência, pois sabemos que destes neurónios derivam axónios de condução mais lenta. No entanto, a preservação das amplitudes das Ondas F não sustenta de forma firme esta hipótese.

Apesar de nenhum dos mecanismos expostos ser indiscutível, não podemos excluir uma redução selectiva da excitabilidade dos motoneurónios alfa de maior diâmetro, inervando axónios mais rápidos, durante a imobilidade, como a causa fundamental ou adjuvante.

Dado as ondas F apresentarem uma relação fisiologicamente complexa (Eisen & Odusote, 1979) e estando descrita uma menor sensibilidade destas às alterações da excitabilidade dos motoneurónios, comparativamente ao estudo do reflexo H (Pierrot-Deseilligny & Burke, 2012), sentimos a necessidade de avaliar também esta medida (reflexo H).

### **5.1.2| Reflexo H**

Descrito pela primeira vez por Paul Hoffmann em 1910, o reflexo H é um potencial trifásico com uma deflecção inicial positiva (Kimura, 1989; Magladery & Mcdougal, 1950). É considerada uma resposta neurofisiológica tardia, análoga ao reflexo monossináptico de estiramento (Knikou, 2008). Para obtenção desta resposta, deve ser aplicado um estímulo elétrico de intensidade inferior ao limiar motor sobre um nervo misto (p.e nervo tibial ao nível da fossa poplíteia) (Burke et al., 1999). A informação aferente deve ser síncrona aquando da sua chegada às sinapses com os neurónios motores medulares, de forma a produzir um potencial pós-sináptico excitatório composto (EPSP) suficientemente intenso para excitar os motoneurónios de menores dimensões (Burke, 2016).

A onda M e o reflexo H não recrutam a mesma população de neurónios motores (Henneman et al., 1964; Pierrot-Deseilligny & Burke, 2012). Contudo, com o aumento da intensidade de estimulação e recrutamento concomitante da onda M, a amplitude do reflexo H tende a diminuir ficando mesmo ausente quando a amplitude da onda M é máxima (Kimura, 1989). A maioria dos autores defendem que à medida que a onda M aumenta de amplitude por activação de maior

número de MNs, o reflexo H começa a reduzir-se pela colisão dos potenciais aferentes ortodróxicos com os potenciais associados com a propagação do estímulo por via antidrómica pelos axónios motores (Pierrot-Deseilligny & Burke, 2012). Isto poderá ocorrer devido à projecção excitatória de cada aferente Ia para quase todos MN do mesmo segmento (Henneman et al., 1964). Existem outras possíveis explicações, tais como: o período refractário do segmento inicial do axónio; a inibição das células de Renshaw mediadas por axónios colaterais dos neurónios motores; via células comissurais para o mesmo ou para motoneurónios alfa vizinhos; ou a activação concomitante de aferência Ib (Kimura, 1989).

O reflexo H é fortemente influenciado por vias descendentes motoras. Na verdade, em caso de lesão da via motora cortico-espinal, se observa uma redução do limiar de excitabilidade, um aumento da razão  $H_{máx}/M_{máx}$  e uma alteração da curva de recrutamento (Misiaszek, 2003). Desta forma o comportamento do reflexo H espelha a excitabilidade do neurónio motor medular. Por este motivo estes parâmetros têm sido estudados em situações de acidente vascular cerebral, lesão vertebromedular, doenças neurodegenerativas e para avaliar o efeito de fármacos na excitabilidade medular. No contexto do nosso protocolo pareceu-nos oportuno incluir o estudo deste reflexo.

No nosso estudo nenhuma intervenção alterou as medidas utilizadas: limiar de excitabilidade da resposta; amplitude ( $H_{máx}/M_{máx}$ ); e curva de recrutamento. Na verdade, outros estudos com a tsDCS evidenciaram ausência de modificação da relação  $H_{máx}/M_{máx}$ . (Bocci, Marceglia, et al., 2015; Cogiamanian et al., 2011; J.C Lamy et al., 2012; Winkler et al., 2010a). Contudo, autores que aplicaram outros protocolos no estudo do reflexo H observaram um aumento e uma diminuição da depressão pós-activação do reflexo H, pela aplicação de c-tsDCS e a-tsDCS durante 15 minutos, respectivamente (Winkler et al., 2010b) e modificação das curvas de recrutamento sugerindo um aumento da excitabilidade espinal após 15 minutos de a-tsDCS (J.C Lamy et al., 2012). Para além do nosso estudo não ter avaliado todos estes parâmetros, ambos os estudos anteriores usaram localizações diferentes dos eléctrodos de estimulação.

### 5.1.3| Resposta simpático-cutânea

Em 1984, Shahani et al., descreveram pela primeira vez a resposta simpático-cutânea (SSR), resultante da alteração do potencial eléctrico da pele. A SSR corresponde a um arco reflexo poli-sináptico, envolvendo os segmentos medular, bulbar e supra-bulbar (Chroni, Argyriou, Polychronopoulos, & Sirrou, 2006; Kucera et al., 2004; Shahani, Halperin, Boulu, & Cohen, 1984; Vetrugno, Liguori, Cortelli, & Montagna, 1985).

A SSR, como toda a função sudomotora, não está apenas sob a influência do SNA simpático. Um estímulo eléctrico provoca uma resposta conduzida pelas fibras aferentes sensitivas mielinizadas de grandes dimensões até ao neurónio ganglionar e deste ao corno posterior da medula. Desta forma pode desencadear um arco reflexo local e ascender a centros superiores (Snell, 2010). Esta informação ascende em direcção ao núcleo talâmico ventral postero-lateral e deste para o córtex sensitivo (área de Brodmann 3,2,1) (Snell, 2010). As aferências são depois integradas no hipotálamo anterior, na formação reticular do tronco cerebral, assim como no sistema límbico e no motor (Vetrugno et al., 1985).

A via eferente passa pelo neurónio pré-ganglionar com corpo celular na coluna intermediolateral toraco-lombar (T1-L2) da medula espinhal. Os seus axónios mielinizados vão deixar a medula espinhal através da raiz anterior, dirigindo-se para o nervo respectivo. Imediatamente, as fibras simpáticas pré-ganglionares vão emergir dos ramos brancos comunicantes e dirigir-se para os gânglios do tronco simpático paravertebral, estrutura bilateral e simétrica e de localização antero-lateral à medula. Esta informação vai ser projectada via fibra simpática pós-ganglionar não-mielinizada (fibra tipo C) para as células eceptoras, neste caso, as glândulas sudoríparas écrinas proporcionando-lhes uma inervação colinérgica (Guyton, 2011; Sato, 1977).

Pretendemos avaliar o impacto do nosso protocolo experimental nas respostas simpáticas cutâneas da região plantar, por estimulação em dermatómos lombo-sagrados e cervicais, tendo em conta o longo trajecto desta via e o papel dos neurónios localizados na região intermediolateral da medula na resposta.

O facto de existir integração superior permite perceber, em parte, a influência dos estados emocionais do indivíduo sobre este sistema, bem como a grande susceptibilidade de variação desta resposta.

Em todos os sujeitos foram observadas respostas, tipicamente de maior amplitude por estimulação do nervo mediano. No entanto, as amplitudes e latências das respostas não revelaram alterações após as intervenções efectuadas.

Estes resultados vão ao encontro aos descritos no estudo de Niérat que apontam para uma baixa probabilidade da tsDCS em influenciar a actividade parassimpática e simpática (Niérat et al., 2014).

#### **5.1.4| Respostas obtidas por estimulação magnética transcraniana**

##### **5.1.4.1| Potencial Evocado Motor**

Há cerca de 30 anos, Anthony Barker introduziu a estimulação magnética transcraniana (*Transcranial magnetic stimulation* - TMS) (Barker, Jalinousa, & Freeston, 1985) como ferramenta de investigação do córtex motor. Esta técnica não-invasiva, segura e indolor (Weber & Eisen, 2002) é hoje amplamente utilizada na investigação da excitabilidade e plasticidade do córtex motor, na avaliação da integridade funcional das estruturas neuronais intracorticais, no estudo da via corticoespinhal, da excitabilidade do neurónio motor medular e das vias inibitórias intracorticais (Kobayashi & Pascual-Leone, 2003). Neste equipamento, a corrente eléctrica armazena-se nos condensadores que libertam esta carga para a *bobina* magnética a cada estímulo. A rápida mudança da intensidade da corrente eléctrica vai gerar um campo magnético, com linhas de fluxo perpendiculares à *bobina* tangencial ao escalpe (Nitsche et al., 2008). Por indução do campo magnético gerado, um campo eléctrico é induzido perpendicularmente ao campo magnético, ou seja paralelo ao córtex (Hallett, 2007).

##### **5.1.4.2| Período de Silêncio Cortical**

Em 1980, Merton e Morton aplicaram estimulação eléctrica transcraniana (TES) sobre o córtex motor durante a contracção tónica do músculo e obtiveram um período de silêncio eléctrico da actividade em EMG de superfície após ao PEM (Merton & Morton, 1980). Estas respostas têm uma duração de 100 a 300 ms, dependendo sobretudo da intensidade do estímulo (Inghilleri, Berardelli, Cruccu, & Manfredi, 1992; Orth & Rothwell, 2004). Contudo, estudos que comparam as duas técnicas (TMS e TES) revelam que o período de silêncio tem maior duração após a estimulação magnética. Acredita-se que esta diferença se deva à activação preferencial interneurónios intracorticais na TMS (Day et al., 1989), enquanto na TES despolariza directamente os axónios dos neurónios piramidais (Edgley, Eyre, Lemon, & Miller, 1997).

Experiências com a estimulação cervicomedular na indução do período de silêncio permitiram concluir que os 50-60 ms iniciais dependem sobretudo de mecanismos inibitórios espinhais, entre os quais a inibição recorrente pelas células de Renshaw, o fenómeno da pós-hiperpolarização (*after-hyperpolarization* - o período refractário dos neurónios motores medulares espinhais após a sua excitação) e da activação de fibras inibitórias descendentes (Inghilleri et al., 1992; Pierrot-Deseilligny & Burke, 2012). Após esse período, a inibição é devida a mecanismos intracorticais, em particular pela activação de neurónios inibitórios GABAérgicos do tipo B que se projectam para as células piramidais do córtex motor (Weber & Eisen, 2002).



A estimulação magnética transcraniana tem sido um método excelente e extensamente explorado para estudo da excitabilidade da via motora, sendo possível a aplicação de múltiplos paradigmas desenvolvidos para este fim. As respostas motoras também dependem da excitabilidade dos neurónios motores medulares, sendo conhecido o fenómeno da facilitação, pelo qual a contração muscular ao reduzir o limiar de excitabilidade destes, proporciona respostas de maior amplitude e de menor latência (reduzindo em cerca de 1-2 ms o tempo de condução central) para a mesma intensidade de estímulo cortical. A estimulação magnética activa primeiramente as mesmas unidades motoras que são recrutadas mais precocemente, ou seja unidades motoras de tipo I, sendo de considerar que maiores intensidades de estímulo activam as restantes unidades motoras.

Neste estudo incluímos parâmetros convencionais, como o limiar de excitabilidade cortical, a amplitude da resposta motora, o tempo de condução central e o período de silêncio cortical no membro inferior, que como vimos acima depende da activação de interneurónios corticais mas também de vias intramedulares. Embora não fosse expectável uma alteração do limiar cortical, os restantes parâmetros seriam susceptíveis de alteração por alteração no comportamento excitatório dos neurónios medulares.

Na verdade, o limiar cortical, amplitude das respostas evocadas pela estimulação magnética e o período de silêncio não demonstraram nenhuma alteração no nosso estudo.

Desde que a técnica (tsDCS) foi apresentada por Filippo Cogiamanian e o seu grupo apenas 3 artigos incluíram como metodologia o estudo dos potenciais evocados motores (Bocci, Marceglia, et al., 2015; Niérat et al., 2014; Shin & Lim, 2011).

Os dois únicos estudos que apresentam um aumento da amplitude do MEP dispuseram os electródos de estimulação nas regiões cervicais anterior e posterior. Observaram ainda que este aumento não era dependente da polaridade de corrente. Ou seja, ocorreu um aumento das respostas motoras, sugerindo um aumento da excitabilidade do tracto corticoespinal tanto após a-tsDCS como na c-tsDCS (Niérat et al., 2014; Shin & Lim, 2011). Porém, estes resultados não têm uma interpretação conclusiva (Niérat et al., 2014). Num outro estudo (Bocci, Marceglia, et al., 2015) tal observação não foi repetida, embora descrevam um aumento do limiar motor após a-tsDCS e da área do MEP após c-tsDCS (Bocci, Marceglia, et al., 2015).

A despolarização dos neurónios através da TMS é um assunto complexo, a mesma está dependente de vários factores, como as propriedades dos neurónios e do campo eléctrico induzido (Edgley et al., 1997; Phillips & Porter, 1977). A estimulação eléctrica induzida pelo estimulador vai despolarizar preferencialmente neurónios orientados horizontalmente no córtex, como os interneurónios, axónios colaterais dos neurónios piramidais e axónios aferentes com origem cortical e subcortical. Desta forma, a activação é preferencialmente trans-sináptica, e origina ondas ditas indirectas – ondas I (Day et al., 1989; Edgley et al., 1997; Kobayashi & Pascual-

Leone, 2003), que antecipam em 1-2 ms as ondas directas (ondas D) que surgem quando é estimulado o segmento inicial do axónio (Edgley et al., 1997; Kobayashi & Pascual-Leone, 2003). Para além do mais, várias características dos neurónios determinam a resposta ao estímulo da TMS como o diâmetro do corpo celular, o calibre e a posição do seu axónio (Edgley et al., 1997), o seu nível de excitabilidade (Edgley et al., 1997; Phillips & Porter, 1977) e a distância entre o neurónio e o escalpe (Phillips & Porter, 1977). Estas diferenças tendem a desaparecer quando os estímulos aplicados são de maior intensidade (Day et al., 1989). Assim, para além de valores diferentes de intensidade de estímulo, que podem estar relacionadas com as diferenças das áreas dos MEPs, esta variável está ainda dependente da activação preferencial (trans-sináptica ou do segmento inicial do axónio) o que obriga uma reflexão crítica de alterações deste parâmetro. E na verdade, não foram descritas diferenças nas latências do PEM.

Para além de outras diferenças metodológicas, como no nosso estudo o neurofisiologista estar cego para o tipo de intervenção efectuada, acreditamos que o factor mais provável de diferença entre os achados dos estudos acima mencionados seja a montagem variável dos electródos (assunto discutido adiante).

## **5.2| tsDCS – Parâmetros metodológicos**

Os estudos anteriormente mencionados utilizando esta técnica em humanos evidenciaram discretas alterações de vários parâmetros neurofisiológicos resultantes da avaliação de circuitos somatosensitivos, motores e nociceptivos da medula (Cogiamanian et al., 2008; Hubli et al., 2013; J.C Lamy et al., 2012; Truini et al., 2011; Winkler et al., 2010b).

Acreditamos que os resultados negativos do nosso estudo se devam a um ou à combinação dos vários factores que abaixo se mencionam.

### **5.2.1| Factores Anatomo-Fisiológicos**

Uma possibilidade para os nossos resultados negativos pode dever-se às distintas propriedades electrofisiológicas entre as populações de neurónios, ou seja, entre motoneurónios, neurónios sensitivos e interneurónios. Uma dessas propriedades é a polarização, sendo esta característica dependente da orientação celular.

Visto os interneurónios não serem orientados de forma regular, os possíveis efeitos da aplicação da técnica poderão apenas depender dos neurónios medulares motores e sensitivos (Fuortes, 1956). Também a orientação específica das fibras longitudinais e transversais na medula é fundamental na compreensão da sua susceptibilidade às correntes geradas pelo tsDCS (Zaghloul Ahmed, 2011; Creutzfeldt et al., 1962).

Nas sinapses unidireccionais (como a sinapse Ia-MN) a polaridade anódica/catódica poderá induzir efeitos opostos. Suportando este conceito, Winkler et al., (2010) observou um aumento e uma diminuição da depressão pós-activação do reflexo H, pela aplicação de c-tsDCS e a-tsDCS durante 15 minutos, respectivamente. No entanto tendo em conta o limitado alcance deste efeito, o autor argumenta que este facto pode dever-se à dispersão da densidade de corrente na medula (Winkler et al., 2010b).

Ainda que de uma forma especulativa, e dado desconhecermos com rigor as linhas de direcção do campo eléctrico gerado, uma montagem diferente dos eléctrodos poderia afectar os resultados através de dois processos que designaremos de indirecto e directo.

A forma indirecta reporta-se ao valor máximo do campo eléctrico na região sob o eléctrodo alvo, e sua influência nas alterações do potencial de membrana de fibras sensitivas com projecção para ao motoneurónios espinhais, ou seja, transsinapticamente. No nosso estudo tal não foi verificado pelo estudo do reflexo H, contudo outros métodos para a avaliação desta resposta, como o estudo da depressão pós-activação do reflexo H podem ser mais sensíveis para este fim, a determinação do limiar pela curva de recrutamento e uma análise mais rigorosa desta mesma curva (Cogiamanian et al., 2011; Winkler et al., 2010b). No entanto no nosso estudo não se observou

diminuição da amplitude do reflexo H relacionada com a duração da experiência (Crone, Johnsen, Hultborn, & Orsnes, 1999) nem o seu aumento após estimulação anódica, como o descrito por Lamy colaboradores (Jean Charles Lamy & Boakye, 2013).

Na hipótese de modulação directa, ocorreria alteração do potencial de repouso e do limiar dos neurónios motores, como sugerido para o efeito da DC no córtex motor (M Nitsche & Paulus, 2000; Michael Nitsche, Nitsche, et al., 2003), se a intensidade do campo eléctrico gerado for suficiente para esse efeito. Tal não foi observado no nosso estudo. Acreditamos que poderá depender de um campo eléctrico insuficiente, pois o mesmo depende de factores como variações anatómicas, valores das diferentes condutividades das estruturas envolvidas, anisotropia dos tecidos assim como do material e morfologia dos eléctrodos. Por outro lado outras técnicas mais dedicadas de análise como histogramas de resposta peri-estímulo (*Post-Stimulus Time Histograms* -PSTHs) e o estudo do recrutamento das unidades motoras após estimulação pelo uso de agulha concêntrica poderiam fornecer dados mais informativos. Finalmente, seria interessante estudar as respostas motoras em condições de movimento, o que poderia dar mais indicações sobre um eventual efeito das vias monoaminérgicas descendentes.

Foi descrita a possibilidade de ocorrerem possíveis mecanismos compatíveis com fenómenos de plasticidade, tais como potenciação de longo termo (LTP) e depressão de longo termo (LTD) por possível envolvimento da transmissão sináptica glutamatérgica resultando no aumento de  $Ca^{2+}$  intracelular no neurónio pós-sináptico (Ahmed & Wieraszko, 2012). No nosso estudo não foi possível identificar nem avaliar estes fenómenos devido ao seu desenho, quer por consistir num momento único de recolha (T1 – após imediatamente da sessão tsDCS) e pela duração das mesmas.

Apesar da indispensável aplicação de sólidos protocolos na aplicação de tsDCS em modelo animal por forma a auxiliar na interpretação dos resultados, consideramos que deverá existir também um espírito crítico na sua análise quando objectivamos a translação para humanos. Até ao nosso conhecimento durante a revisão da literatura, todos os estudos de tsDCS em modelo animal foram aplicados em ratos. Este modelo animal apresenta algumas diferenças anatómicas importantes comparativamente aos primatas superiores. Por exemplo, nos ratos a maioria dos axónios do tracto corticoespinal descem pelo funiculus dorsal (porção posterior da medula) e terminam no corno dorsal da medula, sendo que a região análoga nos humanos é a porção anterior. Outro exemplo, é a ausência de uma relação monossináptica com os MN espinais ou mesmo, dissináptica mediada via neurónios propriospinais (Kuypers, 1981).

Além do mais, há marcadas diferenças de condutância por distintas densidades do tecido ósseo e menor massa muscular. Finalmente, no modelo animal o eléctrodo activo tem sido colocado

subcutaneamente, gerando campo eléctrico/carga total com valores superiores ao que ocorre em humanos.

Assim, apesar dos achados efectivos da aplicação de tsDCS no modelo animal, tal não permite estabelecer uma relação directa com os resultados em humanos.

### 5.2.2| Montagem

Em estudos que incidiram sobre uma população saudável foi descrita uma diminuição da amplitude do reflexo de flexão do membro inferior (activação das fibras A $\delta$  e fibras C) após tsDCS anódica (Cogiamanian et al., 2011). Neste estudo os autores colocaram o eléctrodo activo na região torácica ao nível de T10, com semelhança ao estudo de Hubli et al. que o colocou em T11-T12 (Cogiamanian et al., 2011; Hubli et al., 2013). Contudo Hubli e colaboradores observaram um aumento da amplitude do reflexo espinhal (activação das fibras A $\beta$ ) e uma diminuição do respectivo limiar após estimulação anódica (Hubli et al., 2013). Os primeiros autores colocaram o eléctrodo de retorno no ombro esquerdo e os últimos no ombro contralateral, embora seja incerta a repercussão destas diferenças nos resultados.

Parazzini (2014) testou 3 montagens em que apenas o eléctrodo de retorno variava de posição. Numa das montagens com o eléctrodo de referência 2 cm acima do umbigo observaram-se maiores valores de densidade da corrente (das 3 montagens apresentadas) ao nível da cauda equina, do nervo ciático e da região lombar (Parazzini et al., 2014). Estes resultados sublinham a importância da colocação destes eléctrodos.

A complexidade deste assunto é exemplificada pela distribuição assimétrica do campo eléctrico gerado por tsDCS nos componentes transversal e longitudinal (Fernandes, Wenger, de Carvalho, et al., 2015; Parazzini et al., 2014), com maior densidade do campo no componente longitudinal (Fernandes, Wenger, Salvador, et al., 2015; Parazzini et al., 2014).

Foi descrito que o valor de campo eléctrico com efeito neuromodulatório em condições de estimulação do córtex motor é de 0,15 V/m (P. C. Miranda, Mekonnen, Salvador, & Ruffini, 2013). Noutro estudo de avaliação do campo eléctrico gerado pela tsDCS, mas este de modelagem computacional da medula espinhal, os valores máximos registados foram de 0,19 V/m para a montagem lombar (eléctrodo alvo – sobre o processo espinhoso de L1-L3) e valor máximo de 0,17 V/m para a montagem torácica (eléctrodo alvo – sobre o processo espinhoso de T9-T11). O eléctrodo de retorno foi idêntico, ou seja, sobre músculo deltoide direito (Fernandes, Wenger, Salvador, et al., 2015). Na teoria, a tsDCS apresenta capacidade modulatória segundo os valores obtidos por Fernandes et al.

Não obstante a montagem escolhida por nós ser distinta dos estudos descritos, a mesma derivou da tentativa de potenciar os efeitos na região lombo-sagrada e cauda equina. Em estudos futuros

propomos a avaliação de dois grupos nos quais a localização do eléctrodo de retorno seja num deles igual à montagem utilizada no presente estudo e no segundo grupo seja colocada sobre o bordo anterior da crista ilíaca direita.

### **5.2.3| Distância e Conductância dos tecidos**

É conhecido que distância entre os 2 eléctrodos (de retorno e alvo) se correlaciona negativamente com a duração e magnitude dos efeitos induzidos por DC aplicada sobre o crânio (Moliadze et al., 2010). Apesar de este argumento ser compreensível em termos biofísicos, estudos em modelos apontam para resultados diferentes. Exemplo disso é a montagem T10-Cz (eléctrodo alvo e de retorno) em que o valor de campo eléctrico é superior sobre a região cervical (Parazzini et al., 2014). Acreditamos que a dificuldade de prever resultados e a distribuição da corrente via tsDCS comparativamente à tDCS se deva a inúmeros factores dos quais, importa destacar as grandes distâncias entre os 2 eléctrodos nas montagens apresentadas na literatura.

Para além do factor distância referido, existe um vasto conjunto de estruturas entre o eléctrodo alvo e a medula espinhal. Este número elevado de estruturas comparativamente à tDCS, em conjunto com os seus valores de conductância muito distintos, potencia a dispersão de corrente e a redução da sua densidade (J.C Lamy et al., 2012). Como já referido, o efeito limitado pode resultar de uma distribuição não homogénea do campo eléctrico ao longo da medula espinhal (Winkler et al., 2010a). Tal pode dever-se à existência de inúmeras estruturas com diferentes valores de conductância.

Na nossa montagem o eléctrodo alvo foi colocado centrado sobre a coluna vertebral, o que acreditamos que poderá constituir um importante condicionante da corrente e direcção do campo eléctrico que chega à medula espinhal, dada a conductância do tecido ósseo. Em estudos futuros sugerimos a colocação dos electrodos numa disposição paravertebral por reduzir a presença de tecido ósseo entre os mesmos.

Embora de menor relevo, importa ainda referir que também o tipo de gel electroconductor poderá ser um factor modificador do campo eléctrico, sendo de acrescentar que não foi possível avaliar a conductividade do gel aplicado entre o eléctrodo e a pele. Outros autores têm preferido a utilização de esponjas embebidas em solução salina (Cogiamanian et al., 2008; J.C Lamy et al., 2012; Niérat et al., 2014), nestas a condutividade é conhecida (eléctrodos com área de 35 cm<sup>2</sup> têm uma conductância de 2 S/m (P. C. Miranda et al., 2013).

### **5.3.5| Ordem de estimulação**

A ordem do protocolo aplicado de tsDCS pode potencialmente influenciar os resultados, porém a estimulação foi pseudorandomizada, os sujeitos testados e o neurofisiologista que efectuou as técnicas de registo desconheciam a polaridade da estimulação, decorreu no mínimo 1 semana de intervalo entre protocolos e as sessões decorreram sempre no mesmo dia da semana e no mesmo horário.

Concluimos assim, que tendo em conta os vários estudos com evidência de alterações dos diferentes parâmetros neurofisiológicos, e apesar de não obtermos resultados positivos no nosso, não podemos excluir a tsDCS como uma ferramenta com capacidade de modulação.

Porém, devemos salientar que as alterações descritas provavelmente não tem significativo impacto em condições clínicas. Torna-se, assim prioritário realizar mais estudos e investir em modelos computacionais de forma a alcançar efeitos clinicamente relevantes.

## 6| CONCLUSÃO

---

Sendo a tsDCS uma técnica bastante recente, o objectivo deste estudo foi estudar um eventual efeito da tsDCS sobre a região lombar, seguindo um rigoroso desenho experimental, tendo em conta os resultados inconsistentes publicados na literatura.

A escolha dos parâmetros neurofisiológicos teve, não só, o intuito de avaliar vários componentes da via motora como, cumulativamente, promover a compreensão dos princípios básicos da possível alteração dos parâmetros neurofisiológicos estudados. A utilização destes métodos revelou-se inevitável, dada a sua aplicação corrente na prática clínica, e sustentou-se na utilização exclusiva destes métodos nos serviços de neurofisiologia usualmente disponíveis.

Perante os achados neurofisiológicos resultantes deste projecto na avaliação da excitabilidade do 2º neurónio motor, concluímos que a tsDCS, com os parâmetros de estimulação empregues neste estudo, não condiciona uma eficaz neuromodulação do motoneurónio espinhal. Acreditamos que esta ineficácia se deva a vários factores relacionados com o protocolo de tsDCS aplicado e às características dos MN.

A maior importância do componente longitudinal, tal como sugerido por outros estudos indica que poderá existir maior modulação dos cordões posteriores/vias sensitivas. De registar que a avaliação destas vias não fazia parte dos objectivos do presente estudo. O valor (tórico) da densidade de corrente na componente transversal pode ser incapaz de estimular os neurónios motores e interneurónios com relação monossináptica com os MN espinhais, devido à sua localização na medula espinhal.

O único resultado positivo do nosso trabalho foi a identificação de que 90 minutos de repouso causa um consistente aumento das latências das Ondas F. Embora os nossos resultados não esclareçam em absoluto o mecanismo subjacente, os dados obtidos sugerem que a menor excitabilidade de neurónios motores de maiores diâmetros (unidades de tipo II) pode consistir na explicação mais provável, associada eventualmente a uma redução da temperatura distal do membro investigado. Neste momento efectuamos estudos complementares para tentar responder a esta questão que no entanto se afasta dos objectivos deste nosso trabalho.

Face ao exposto, será necessário em estudos futuros, adicionar métodos que permitam avaliar a probabilidade de despolarização ou o cálculo da frequência de recrutamento das unidades motoras, tais como o estudo de histogramas de respostas motoras após o estímulo (Post-stimulus time histograms - PSTHs) e a electromiografia de detecção com agulha. Poderá ser ainda



interessante aplicar a técnica de *threshold tracking* para avaliar possíveis alterações das propriedades da membrana axonal.

É também imprescindível utilizar modelos computacionais precisos que esclareçam acerca da distribuição das cargas eléctricas induzidas na medula, no líquido e no espaço peri-medular. As indicações provindas destes modelos permitirão paradigmas experimentais mais eficazes, em particular, considerando a variação da corrente, a densidade de carga e carga máxima, assim como a posição dos eléctrodos.

Concluimos assim que para além da necessidade de novos estudos clínicos com diferentes técnicas de estimulação da medula espinhal em paralelo com modelos computacionais, a importância de percebermos a medula espinhal não apenas como uma via de transmissão, mas como uma estrutura complexa capaz de modular a resposta motora.

### **Perspectivas futuras**

O estudo desta nova técnica de modulação, em paralelo com o estudo de modelos biofísicos e computacionais, afigura-se imperativo para a sua optimização, tendo em vista a obtenção de resultados clinicamente significativos.

A aplicação da técnica a indivíduos com patologia neuromuscular poderá também não só ser mais esclarecedora em relação ao mecanismo de actuação como também indicativa quanto à sua melhor optimização.

Estudos futuros com aplicação de corrente alterna poderão possibilitar uma modulação mais eficaz devido às características anatómicas e padrão de excitação das estruturas nervosas (comportamento fásico).

*“Let us keep looking, in spite of everything. Let us keep searching. It is indeed the best method of finding, and perhaps thanks to our efforts, the verdict we will give such a patient tomorrow will not be the same we must give this man today.”*

**Charcot (1889)**

## 7 | BIBLIOGRAFIA

---

- Agnew, W., & McCreery, D. (1987). Considerations for Safety in the Use of Extracranial Stimulation for Motor Evoked Potentials. *Neurosurgery*, 20(1), 143–7.
- Aguilar, J., Pulecchi, F., Dilena, R., Oliviero, a, Priori, a, & Foffani, G. (2011). Spinal direct current stimulation modulates the activity of gracile nucleus and primary somatosensory cortex in anaesthetized rats. *The Journal of Physiology*, 589(Pt 20), 4981–96. <http://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.214189>
- Ahmed, Z. (2010). Dipolar cortico-muscular electrical stimulation: a novel method that enhances motor function in both - normal and spinal cord injured mice. *Journal of Neuroengineering and Rehabilitation*, 7, 46. <http://doi.org/10.1186/1743-0003-7-46>
- Ahmed, Z. (2011). Trans-spinal direct current stimulation modulates motor cortex-induced muscle contraction in mice. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 110(5), 1414–1424. <http://doi.org/10.1152/jappphysiol.01390.2010>
- Ahmed, Z. (2013a). Effects of Cathodal Trans-Spinal Direct Current Stimulation on Mouse Spinal Network and Complex Multijoint Movements. *Journal of Neuroscience*, 33(37), 14949–14957. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2793-13.2013>
- Ahmed, Z. (2013b). Electrophysiological Characterization of Spino-Sciatic and Cortico-Sciatic Associative Plasticity: Modulation by Trans-Spinal Direct Current and Effects on Recovery after Spinal Cord Injury in Mice. *Journal of Neuroscience*, 33(11), 4935–4946. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4930-12.2013>
- Ahmed, Z. (2014). Trans-spinal direct current stimulation alters muscle tone in mice with and without spinal cord injury with spasticity. *The Journal of Neuroscience*, 34(5), 1701–9. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4445-13.2014>
- Ahmed, Z., Freedland, R., & Wieraszko, A. (2010). Excitability changes in the sciatic nerve and triceps surae muscle after spinal cord injury in mice. *J Brachial Plex Peripher Nerve Inj*, 5(1), 8. <http://doi.org/10.1186/1749-7221-5-8>
- Ahmed, Z., & Wieraszko, A. (2012). Trans-spinal direct current enhances corticospinal output and stimulation-evoked release of glutamate analog, D-2,3-<sup>3</sup>H-aspartic acid. *Journal of Applied Physiology*, 112(9), 1576–1592. <http://doi.org/10.1152/jappphysiol.00967.2011>
- Alanis, J. (1952). Effects of direct current on moto neurones. *J. Physiol.*, 120, 569–578.
- Araque, A., Parpura, V., Sanzgiri, R. P., & Haydon, P. G. (1999). Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends in Neurosciences*, 22(5), 208–215. [http://doi.org/10.1016/S0166-2236\(98\)01349-6](http://doi.org/10.1016/S0166-2236(98)01349-6)
- Ariodante, a., Bocci, T., Vergari, M., Ilarda, I., Manzotti, C., Marceglia, S., ... Priori, a. (2013). 147. Dorsal transcutaneous spinal direct current stimulation (tsDCS) modulates human corticospinal system excitability. *Clinical Neurophysiology*, 124(11), e222. <http://doi.org/10.1016/j.clinph.2013.06.174>
- Barker, A., Jalinousa, R., & Freeston, I. L. (1985). Non-Invasive Magnetic Stimulation of Human Motor Cortex. *The Lancet*, 325(8437), 1106–1107. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(85\)92413-4](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(85)92413-4)

- Bikson, M., Inoue, M., Akiyama, H., Deans, J. K., Fox, J. E., Miyakawa, H., & Jefferys, J. G. R. (2004). Effects of uniform extracellular DC electric fields on excitability in rat hippocampal slices *in vitro*. *The Journal of Physiology*, *557*(1), 175–190. <http://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.055772>
- Bocci, T., Caleo, M., Vannini, B., Vergari, M., Cogiamanian, F., Rossi, S., ... Sartucci, F. (2015). An unexpected target of spinal direct current stimulation: Interhemispheric connectivity in humans. *Journal of Neuroscience Methods*, *254*, 18–26. <http://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.07.012>
- Bocci, T., Marceglia, S., Vergari, M., Cognetto, V., Cogiamanian, F., Sartucci, F., & Priori, A. (2015). Transcutaneous Spinal Direct Current Stimulation (tsDCS) Modulates Human Corticospinal System Excitability. *Journal of Neurophysiology*, *jn.00490.2014*. <http://doi.org/10.1152/jn.00490.2014>
- Bocci, T., Vannini, B., Torzini, A., Mazzatenta, A., Vergari, M., Cogiamanian, F., ... Sartucci, F. (2014). Cathodal transcutaneous spinal direct current stimulation (tsDCS) improves motor unit recruitment in healthy subjects. *Neuroscience Letters*, *578*, 75–79. <http://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.06.037>
- Bostock, H., Cikurel, K., & Burke, D. (1998). Threshold tracking techniques in the study of human peripheral nerve. *Muscle & Nerve*, *21*(2), 137–158.
- Brunoni, A. R., Nitsche, M. a, Bolognini, N., Bikson, M., Wagner, T., Merabet, L., ... Bolognini, N. (2013). Clinical Research with Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS): Challenges and Future Directions. *Brain Stimulation*, *5*(3), 175–195. <http://doi.org/10.1016/j.brs.2011.03.002.Clinical>
- Buchthal, F., & Rosenfalck, A. (1966). Evoked action potentials and conduction velocity in human sensory nerves. *Brain Research*, *3*(1), 1–122. [http://doi.org/10.1016/0006-8993\(66\)90056-4](http://doi.org/10.1016/0006-8993(66)90056-4)
- Burke, D. (2016). Clinical Uses of H reflexes of Upper and Lower Limb Muscles. *Clinical Neurophysiology Practice*, (February), 2–20. <http://doi.org/10.1016/j.cnp.2016.02.003>
- Burke, D., Mogyoros, I., Vagg, R., & Kiernan, M. C. (1999). Temperature dependence of excitability indices of human cutaneous afferents. *Muscle and Nerve*. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4598\(199901\)22:1<51::AID-MUS9>3.0.CO;2-Q](http://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4598(199901)22:1<51::AID-MUS9>3.0.CO;2-Q)
- Chen, R., Yaseen, Z., & Hallett, M. (1998). Time Course of Corticospinal Excitability in Reaction Time and Self-Paced Movements. *Annals of Neurology*, *44*(3), 317–325.
- Chroni, E., Argyriou, A. a., Polychronopoulos, P., & Sirrou, V. (2006). The effect of stimulation technique on sympathetic skin responses in healthy subjects. *Clinical Autonomic Research*, *16*(6), 396–400. <http://doi.org/10.1007/s10286-006-0376-x>
- Cogiamanian, F., Ardolino, G., Vergari, M., Ferrucci, R., Ciocca, M., Scelzo, E., ... Priori, A. (2012). Transcutaneous Spinal Direct Current Stimulation. *Frontiers in Psychiatry*, *3*(July), 1–5. <http://doi.org/10.3389/fpsy.2012.00063>
- Cogiamanian, F., Vergari, M., Pulecchi, F., Marceglia, S., & Priori, A. (2008). Effect of spinal transcutaneous direct current stimulation on somatosensory evoked potentials in humans. *Clin Neurophysiol*, *119*(11), 2636–2640. [http://doi.org/S1388-2457\(08\)00879-1](http://doi.org/S1388-2457(08)00879-1) [pii]r10.1016/j.clinph.2008.07.249

- Cogiamanian, F., Vergari, M., Schiaffi, E., Marceglia, S., Ardolino, G., Barbieri, S., & Priori, A. (2011). Transcutaneous spinal cord direct current stimulation inhibits the lower limb nociceptive flexion reflex in human beings. *Pain*, *152*(2), 370–375.  
<http://doi.org/10.1016/j.pain.2010.10.041>
- Creutzfeldt, O. D., Fromm, G. H., & Kapp, H. (1962). Influence of transcortical DC currents on cortical neuronal activity. *Experimental Neurology*, *5*(6), 436–452.  
[http://doi.org/10.1016/0014-4886\(62\)90056-0](http://doi.org/10.1016/0014-4886(62)90056-0)
- Crone, C., Johnsen, L. L., Hultborn, H., & Orsnes, G. B. (1999). Amplitude of the maximum motor response (M(max)) in human muscles typically decreases during the course of an experiment. *Experimental Brain Research*, *124*(2), 265–270.  
<http://doi.org/10.1007/s002210050621>
- Daube, J. R., & Mauguière, F. (Eds.). (2006). *Handbook of Clinical Neurophysiology - Peripheral Nerve Diseases* (Kimura). Elsevier.
- Day, B. L., Dressler, D., Maertens de Noordhout, a, Marsden, C. D., Nakashima, K., Rothwell, J. C., & Thompson, P. D. (1989). Electric and magnetic stimulation of human motor cortex: surface EMG and single motor unit responses. *The Journal of Physiology*, *412*, 449–73. <http://doi.org/10.1113/jphysiol.1989.sp017626>
- De Carvalho, M., Scotto, M., Lopes, A., & Swash, M. (2002). F-Waves and the corticospinal lesion in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders : Official Publication of the World Federation of Neurology, Research Group on Motor Neuron Diseases*, *3*(3), 131–6.  
<http://doi.org/10.1080/146608202760834139>
- Eccles, B. Y. J. C., Schmidt, R. F., & Willis, W. D. (1962). Presynaptic inhibition of the spinal monosynaptic monosynaptic reflex pathway., 282–297.
- Eccles, J. C., Eccles, R. M., Iggo, a, & Ito, M. (1961). Distribution of recurrent inhibition among motoneurons. *The Journal of Physiology*, *159*, 479–499.
- Edgley, S., Eyre, J., Lemon, R. N., & Miller, S. (1997). Comparison of activation of corticospinal neurons and spinal motor neurons by magnetic and electrical transcranial stimulation in the lumbosacral cord of the anaesthetized monkey. *Brain*, *120*(5), 839–853.  
<http://doi.org/10.1093/brain/120.5.839>
- Eisen, A., & Fisher, M. (1999). The F wave. *Recommendations for the Practice of Clinical Neurophysiology: Guidelines of the IFCN*, *9*, 9–11.
- Eisen, A., & Odusote, K. (1979). Amplitude of the F-wave: a potential means of documenting spasticity. *Neurology*, *29*, 1306–1309.
- Elbasiouny, S. M., & Mushahwar, V. K. (2007). Suppressing the excitability of spinal motoneurons by extracellularly applied electrical fields: insights from computer simulations. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, *103*(5), 1824–36.  
<http://doi.org/10.1152/jappphysiol.00362.2007>
- Enoka, R. M. (2008). *Neuromechanics of human movement. Human Kinetics* (4th ed.). USA. Retrieved from <http://books.google.com/books?id=2JI04kdV9isC&pgis=1>

- Fadiga, L., Buccino, G., Craighero, L., Fogassi, L., Gallese, V., & Pavesi, G. (1998). Corticospinal excitability is specifically modulated by motor imagery: A magnetic stimulation study. *Neuropsychologia*, *37*(2), 147–158. [http://doi.org/10.1016/S0028-3932\(98\)00089-X](http://doi.org/10.1016/S0028-3932(98)00089-X)
- Fernandes, S. ., Wenger, C., Salvador, R., de Carvalho, M., & Miranda, P. C. (2015). Transcutaneous Spinal Cord Stimulation: Modeling the Electric Field Distribution using the Finite Element Method. In *EMBC'15 - 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, Milan. Italy, 2015*. (p. b). <http://doi.org/10.1152/jn.00490.2014>
- Fernandes, S. R., Wenger, R. S. C., de Carvalho, M., & Miranda, P. C. (2015). Transcutaneous Spinal Direct Current Stimulation : Modelling the Electric Field Distribution in the Cervical Spinal Cord. In *3rd International Congress on Neurotechnology Electronics and Informatics – Neurotechnix 2015, Lisboa, Portugal, 2015*. (p. a).
- Fisher, M. (1992). H reflexes and F waves- physiology and clinical indications (AAEM Minimonograph 13). *Muscle Nerve*, *15*(11), 1223–33.
- Fisher, M. (2007). F-Waves – Physiology and Clinical Uses. *The Scientific World JOURNAL*, *7*, 144–160. <http://doi.org/10.1100/tsw.2007.49>
- Fujisawa, R., Kimura, J., Taniguchi, S., Ichikawa, H., Hara, M., Shimizu, H., ... Tani, T. (2011). Effect of volitional relaxation and motor imagery on F wave and MEP: Do these tasks affect excitability of the spinal or cortical motor neurons? *Clinical Neurophysiology*, *122*(7), 1405–1410. <http://doi.org/10.1016/j.clinph.2010.12.041>
- Funase, K., Imanaka, K., & Nishihira, Y. (1994). Excitability of the soleus motoneuron pool revealed by the developmental slope of the H-reflex as reflex gain. *Electromyography and Clinical Neurophysiology*, *34*(8), 477–489.
- Fuortes, M. G. . (1956). Direct current stimulation of motoneurons. *J. Physiol.*, *126*, 494–506.
- Groppa, S., Oliviero, A., Eisen, A., Quartarone, A., Cohen, L. G., Mall, V., ... Siebner, H. R. (2012). A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: Report of an IFCN committee. *Clin Neurophysiol*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22349304>
- Gutrecht, J. A., Suarez, G., & Denny, B. E. (1993). Sympathetic skin response in multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, *118*(1), 88–91. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022510X9390251S>
- Guyton, A. C. (2011). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. (J. E. Hall, Ed.) (13th ed.). USA: Saunders, Elsevier. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Halar, E., DeLisa, J., & Brozovich, F. (1980). Nerve conduction velocity: Relationship of skin, subcutaneous and intramuscular temperatures. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *61*(5), 199–203. Retrieved from <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003927.htm>
- Hallett, M. (2007). Transcranial Magnetic Stimulation: A Primer. *Neuron*, *55*(2), 187–199. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.06.026>

- Hammond, C. (2012). *Cellular and Molecular Neurophysiology*. (M. Eroglu S., Toprak S., Urgan O, MD, Ozge E. Onur, MD, Arzu Denizbasi, MD, Haldun Akoglu, MD, Cigdem Ozpolat, MD, Ebru Akoglu, Ed.) *Saudi Med J* (4th ed., Vol. 33). Oxford: Elsevier. <http://doi.org/10.1073/pnas.0703993104>
- Heckman, C. J., Gorassini, M. a., & Bennett, D. J. (2005). Persistent inward currents in motoneuron dendrites: Implications for motor output. *Muscle and Nerve*, *31*(2), 135–156. <http://doi.org/10.1002/mus.20261>
- Heckman, C. J., Johnson, M., Mottram, C., & Schuster, J. (2008). Persistent inward currents in spinal motoneurons and their influence on human motoneuron firing patterns. *Neuroscientist*, *14*(3), 264–275. <http://doi.org/Doi.10.1177/1073858408314986>
- Heckman, C. J., Mottram, C., Quinlan, K., Theiss, R., & Schuster, J. (2009). Motoneuron excitability: The importance of neuromodulatory inputs. *Clinical Neurophysiology*, *120*(12), 2040–2054. <http://doi.org/10.1016/j.clinph.2009.08.009>
- Heide, a. C., Winkler, T., Helms, H. J., Nitsche, M. a., Trenkwalder, C., Paulus, W., & Bachmann, C. G. (2014). Effects of Transcutaneous Spinal Direct Current Stimulation in Idiopathic Restless Legs Patients. *Brain Stimulation*, *7*(5), 636–642. <http://doi.org/10.1016/j.brs.2014.06.008>
- Henneman, E., Somjen, G., & Carpenter, D. O. (1964). Excitability and Inhibitibility of Motoneurons of Different Sizes. *Journal of Neurophysiology*, 599–620.
- Hernández-Labrado, G. R., Polo, J. L., López-Dolado, E., & Collazos-Castro, J. E. (2011). Spinal cord direct current stimulation: finite element analysis of the electric field and current density. *Medical & Biological Engineering & Computing*, *49*(4), 417–429. <http://doi.org/10.1007/s11517-011-0756-9>
- Hubli, M., Dietz, V., Schrafl-Altarmatt, M., & Bolliger, M. (2013). Modulation of spinal neuronal excitability by spinal direct currents and locomotion after spinal cord injury. *Clinical Neurophysiology*, *124*(6), 1187–1195. <http://doi.org/10.1016/j.clinph.2012.11.021>
- Iglesias, C., Nielsen, J. B., & Marchand-Pauvert, V. (2008). Corticospinal inhibition of transmission in propriospinal-like neurones during human walking. *European Journal of Neuroscience*, *28*(7), 1351–1361. <http://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06414.x>
- Ilieva, H., Polymenidou, M., & Cleveland, D. W. (2009). Non-cell autonomous toxicity in neurodegenerative disorders: ALS and beyond. *The Journal of Cell Biology*, *187*(6), 761–772. <http://doi.org/10.1083/jcb.200908164>
- Inghillerj, M., Berardelli, A., Cruccu, G., & Manfredi, M. (1992). Silent Period Evoked By Transcranial Stimulation of. *Journal of Physiology*, *466*, 521–534.
- Jankowska, E. (1992). Interneuronal relay in spinal pathways from proprioceptors. *Progress in Neurobiology*, *38*(4), 335–378. [http://doi.org/10.1016/0301-0082\(92\)90024-9](http://doi.org/10.1016/0301-0082(92)90024-9)
- Jiang, M., Schuster, J. E., Fu, R., Siddique, T., & Heckman, C. J. (2010). Progressive Changes in Synaptic Inputs to Motoneurons in Adult Sacral Spinal Cord of a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Neurosci*, *29*(48), 15031–15038. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0574-09.2009>. Progressive

- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., & Jessell, T. M. (Eds.). (2000). *Principles of Neural Science*. McGraw-Hill (4th ed.). New York - United States of America.
- Kiehn, O., Erdal, J., Eken, T., & Bruhn, T. (1996). Selective depletion of spinal monoamines changes the rat soleus EMG from a tonic to a more phasic pattern. *The Journal of Physiology*, 492(1), 173–84. <http://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021299>
- Kimura, J. (1989). *Electrodiagnosis in Diseases of nerve and Muscle: Principles and Practice* (2nd ed.). Philadelphia Davis.
- Knikou, M. (2008). The H-reflex as a probe: pathways and pitfalls. *Journal of Neuroscience Methods*, 171, 1–12.
- Kobayashi, M., & Pascual-Leone, A. (2003). Transcranial magnetic stimulation in neurology. *Lancet Neurology*, 2(3), 145–156. [http://doi.org/10.1016/S1474-4422\(03\)00321-1](http://doi.org/10.1016/S1474-4422(03)00321-1)
- Kucera, P., Goldenberg, Z., & Kurca, E. (2004). Sympathetic skin response: review of the method and its clinical use. *Bratisl Lek Listy.*, 105(3), 108–16.
- Kuypers, H. (1981). Anatomy of the Descending Pathways. In *Handbook of physiology - The Nervous system* (pp. 597–666). <http://doi.org/10.1002/cphy.cp010213>
- Lamy, J. ., Ho, C., Badel, A., Arrigo, R. T., & Boakye, M. (2012). Modulation of soleus H reflex by spinal DC stimulation in humans. *Journal of Neurophysiology*, 108(3), 906–914. <http://doi.org/10.1152/jn.10898.2011>
- Lamy, J. C., & Boakye, M. (2013). Seeking significance for transcutaneous spinal DC stimulation. *Clinical Neurophysiology*, 124(6), 1049–1050. <http://doi.org/10.1016/j.clinph.2013.01.007>
- Lee, R. H., & Heckman, C. J. (1998). Bistability in Spinal Motoneurons In Vivo : Systematic Variations in Rhythmic Firing Patterns. *The American Physiological Society*, 572–582.
- Lemon, R. N. (2008). Descending pathways in motor control. *Annual Review of Neuroscience*, 31, 195–218. <http://doi.org/10.1146/annurev.neuro.31.060407.125547>
- Leroy, F., Lamotte d'Incamps, B., Imhoff-Manuel, R. D., & Zytnicki, D. (2014). Early intrinsic hyperexcitability does not contribute to motoneuron degeneration in amyotrophic lateral sclerosis. *eLife*, 3, 1–24. <http://doi.org/10.7554/eLife.04046>
- Leroy, F., & Zytnicki, D. (2015). Is hyperexcitability really guilty in amyotrophic lateral sclerosis ? *Neural Regeneration Research*, 10(9), 2014–2016.
- Lin, C. S.-Y., Chan, J. H. L., Pierrot-Deseilligny, E., & Burke, D. (2002). Excitability of human muscle afferents studied using threshold tracking of the H reflex. *The Journal of Physiology*, 545(2), 661–669. <http://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.026526>
- Magladery, J., & Mcdougal, D. J. (1950). Electrophysiological studies of nerve and reflex activity in normal man. I. Identification of certain reflexes in the electromyogram and the conduction velocity of peripheral nerve fibers. *Bull Johns Hopkins Hosp.*, 5(86), 265–90.

- Matsuda, Y., Oki, S., Kitaoka, K., Nagano, Y., Najima, M., & Desaki, J. (1988). Scanning electron microscopic study of denervated and reinnervated neuromuscular junction. *Muscle & Nerve*, *11*(12), 1266–1271.
- Merton, P. A., & Morton, H. B. (1980). Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject. *Nature*, (227). <http://doi.org/10.1038/285227a0>
- Meyer-Frießem, C. H., Haag, L. M., Schmidt-Wilcke, T., Magerl, W., Pogatzki-Zahn, E. M., Tegenthoff, M., & Zahn, P. K. (2015). Transcutaneous spinal DC stimulation reduces pain sensitivity in humans. *Neuroscience Letters*, *589*, 153–8. <http://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.01.029>
- Miranda, P. C., Mekonnen, A., Salvador, R., & Ruffini, G. (2013). The electric field in the cortex during transcranial current stimulation. *NeuroImage*, *70*, 48–58. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.12.034>
- Miranda, P., Lomarev, M., & Hallett, M. (2006). Modeling the current distribution during transcranial direct current stimulation. *Clin Neurophysiol*, *117*(7), 1623–1639.
- Misiaszek, J. E. (2003). the H-Reflex As a Tool in Neurophysiology : Its Limitations and Uses in Understanding Nervous System Function. *Muscle and Nerve*, *28*(2), 144–160. <http://doi.org/10.1002/mus.10372>
- Moliadze, V., Antal, A., & Paulus, W. (2010). Electrode-distance dependent after-effects of transcranial direct and random noise stimulation with extracephalic reference electrodes. *Clinical Neurophysiology*. <http://doi.org/10.1016/j.clinph.2010.04.033>
- Nielsen., J. B., Crone., C., & Hultborn, H. (2007). The spinal pathophysiology of spasticity – from a basic science point of view. *Acta Physiologica*, *189*(2), 171–180. <http://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2006.01652.x>
- Niérat, M.-C., Similowski, T., & Lamy, J.-C. (2014). Does trans-spinal direct current stimulation alter phrenic motoneurons and respiratory neuromechanical outputs in humans? A double-blind, sham-controlled, randomized, crossover study. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *34*(43), 14420–9. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1288-14.2014>
- Nitsche, M., Cohen, L. G., Wassermann, E. M., Priori, A., Lang, N., Antal, A., ... Pascual-Leone, A. (2008). Transcranial direct current stimulation: State of the art. *Brain Stimulat*, *1*(3), 206–223.
- Nitsche, M., Liebetanz, D., Lang, N., Antal, A., Tergau, F., Paulus, W., & Priori, A. (2003). Safety criteria for transcranial direct current stimulation (tDCS) in humans [1] (multiple letters). *Clinical Neurophysiology*, *114*(11), 2220–2223. [http://doi.org/10.1016/S1388-2457\(03\)00235-9](http://doi.org/10.1016/S1388-2457(03)00235-9)
- Nitsche, M., Nitsche, M., Klein, C. C., Tergau, F., Rothwell, J. C., & Paulus, W. (2003). Level of action of cathodal DC polarisation induced inhibition of the human motor cortex. *Clinical Neurophysiology*, *114*(4), 600–604. [http://doi.org/10.1016/S1388-2457\(02\)00412-1](http://doi.org/10.1016/S1388-2457(02)00412-1)
- Nitsche, M., & Paulus, W. (2000). Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *J Physiol*, *527*(3), 633–639. [http://doi.org/PHY\\_1055](http://doi.org/PHY_1055) [pii]



- Nitsche, M., & Paulus, W. (2000). Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *The Journal of Physiology*, *527*(3), 633–639. [http://doi.org/PHY\\_1055](http://doi.org/PHY_1055) [pii]
- Onushko, T., Hynngstrom, A., & Schmit, B. D. (2011). Bilateral oscillatory hip movements induce windup of multijoint lower extremity spastic reflexes in chronic spinal cord injury. *Journal of Neurophysiology*, *106*(4), 1652–1661. <http://doi.org/10.1152/jn.00859.2010>
- Orth, M., & Rothwell, J. (2004). The cortical silent period: intrinsic variability and relation to the waveform of the transcranial magnetic stimulation pulse. (abstract). *Clin Neurophysiol.*, *115*(5), 1076–82.
- Panayiotopoulos, C. P., Scarpalezos, S., & Nastas, P. E. (1977). F-wave studies on the deep peroneal nerve. Part 1. Control subjects. *J Neurol Sci*, *31*(3), 319–29. [http://doi.org/10.1016/0022-510X\(77\)90211-8](http://doi.org/10.1016/0022-510X(77)90211-8)
- Parazzini, M., Fiocchi, S., Liorni, I., Rossi, E., Cogiamanian, F., Vergari, M., ... Ravazzani, P. (2014). Modeling the current density generated by transcutaneous spinal direct current stimulation (tsDCS). *Clinical Neurophysiology*, *125*(11), 2260–2270. <http://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.02.027>
- Parazzini, M., Rossi, E., Ravazzani, P., & Priori, A. (2013). P 225. Computational models of current densities in transcutaneous spinal direct current stimulation (tsDCS). *Clinical Neurophysiology*, *124*(10), e173. <http://doi.org/10.1016/j.clinph.2013.04.302>
- Perrotta, a., Bolla, M., Anastasio, M. G., Serrao, M., Sandrini, G., & Pierelli, F. (2015). Modulation of temporal summation threshold of the nociceptive withdrawal reflex by transcutaneous spinal direct current stimulation in humans. *Clinical Neurophysiology*, 1–7. <http://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.01.031>
- Pfurtscheller, G. (1992). Event-related synchronization (ERS): an electrophysiological correlate of cortical areas at rest. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, *83*(1), 62–69. [http://doi.org/10.1016/0013-4694\(92\)90133-3](http://doi.org/10.1016/0013-4694(92)90133-3)
- Pfurtscheller, G., & Lopes, F. H. (1999). Event-related EEG / MEG synchronization and desynchronization : basic principles. *Clinical Neurophysiology*, *110*, 1842–1857.
- Pfurtscheller, G., & Neuper, C. (1997). Motor imagery activates primary sensorimotor area in humans. *Neurosci Lett.*, *239*(2-3), 65–68.
- Pfurtscheller, G., Stancák Jr, A., & Neuper, C. (1996). Post-movement beta synchronization. A correlate of an idling motor area? *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, *98*(4), 281–293. [http://doi.org/doi:10.1016/0013-4694\(95\)00258-8](http://doi.org/doi:10.1016/0013-4694(95)00258-8)
- Phillips, C., & Porter, R. (1977). Corticospinal neurones. Their role in movement. *Monogr Physiol Soc.*, *34*(v-xii), 1–450.
- Pierrot-Deseilligny, E., & Burke, D. (2012). *The Circuitry of the Human Spinal Cord - Its Role in Motor Control and Movement Disorders*. Cambridge University Press. <http://doi.org/10.1017/CBO9781139026727>

- Powers, R. K., & Binder, M. D. (2003). Persistent sodium and calcium currents in rat hypoglossal motoneurons. *J Neurophysiol*, 89(1), 615–624. <http://doi.org/10.1152/jn.00241.2002>
- Ramírez-Jarquín, U. N., Lazo-Gómez, R., Tovar-y-Romo, L. B., & Tapia, R. (2014). Spinal inhibitory circuits and their role in motor neuron degeneration. *Neuropharmacology*, 82, 101–107. <http://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.10.003>
- Rossini, P., Barker, A., Berardelli, A., Caramia, M., Caruso, G., Cracco, R., ... Hallett, M. (1994). Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. [http://doi.org/10.1016/0013-4694\(94\)90029-9](http://doi.org/10.1016/0013-4694(94)90029-9)
- Rossini, P., Burke, D., Chen, R., Cohen, L. G., Daskalakis, Z., Di Iorio, R., ... Ziemann, U. (2015). 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 I.F.C.N. Committee. *Clinical Neurophysiology*, 126(6), 1071–1107. <http://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.02.001>
- Rothwell, J., Thompson, P., Day, B., Dick, P., Kachi, T., Cowan, J., & Marsden, C. (1987). Motor Cortex Stimulation in Intact. *Brain*, 1173–1190.
- Sato, K. (1977). The physiology, pharmacology, and biochemistry of the eccrine sweat gland. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Volume 79 SE - 2*, 79, 51–131. <http://doi.org/10.1007/BFb0037089>
- Seddon, J. H. (1943). THREE TYPES OF NERVE INJURY. *Brain*, 66(4), 238–283.
- Shahani, B., Halperin, J., Boulu, P., & Cohen, J. (1984). Sympathetic skin response - A method of assessing unmyelinated axon dysfunction in peripheral neuropathies. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 47, 536–542. <http://doi.org/10.1136/jnnp.47.5.536>
- Sherrington, C. (1929). Some functional problems attaching to convergence. *The Royal Society*. Retrieved from <http://rspb.royalsocietypublishing.org>
- Shin, H.-I., & Lim, C.-Y. (2011). Poster 20 Changes in Motor-evoked Potential Induced by Non-invasive Transcutaneous Direct Current Stimulation of the Neck. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 92(10), 1699. <http://doi.org/10.1016/j.apmr.2011.07.043>
- Snell, R. S. (2010). *Clinical Neuroanatomy* (7th ed.). Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- Sunderland, S. (1968). *Nerves and Nerve Injuries*. Nerves and Nerve Injuries. E.& S. Livingstone Ltd. Edinburgh and London. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-410390-0.00036-6>
- Theiss, R. D., & Heckman, C. J. (2005). Systematic variation in effects of serotonin and norepinephrine on repetitive firing properties of ventral horn neurons. *Neuroscience*, 134(3), 803–815. <http://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.04.041>

- Toshev, P. K., Guleyupoglu, B., & Bikson, M. (2014). Informing dose design by modeling transcutaneous spinal direct current stimulation. *Clinical Neurophysiology : Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*.  
<http://doi.org/10.1016/j.clinph.2014.03.022>
- Truini, a., Vergari, M., Biasiotta, a., La Cesa, S., Gabriele, M., Di Stefano, G., ... Priori, a. (2011). Transcutaneous spinal direct current stimulation inhibits nociceptive spinal pathway conduction and increases pain tolerance in humans. *European Journal of Pain*, *15*(10), 1023–1027. <http://doi.org/10.1016/j.ejpain.2011.04.009>
- Ugrenović, S., Topalović, M., Jovanović, I., Antović, A., Milić, M., & Ignjatović, A. (2014). MORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRIC ANALYSIS OF FASCICULAR STRUCTURE OF TIBIAL AND COMMON PERONEAL NERVES, *16*(1), 18–22.
- Verkhatsky, A., & Nedergaard, M. (2014). Astroglial cradle in the life of the synapse. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, *369*(1654), 20130595–. <http://doi.org/10.1098/rstb.2013.0595>
- Vetrugno, R., Liguori, R., Cortelli, P., & Montagna, P. (1985). Sympathetic skin response. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *48*(0022-3050 (Print)), 489–490.  
<http://doi.org/10.1007/s10286-003-0107-5>
- Walsh, J., & Seignette, S. (1773). To subscribe to Phil. Trans. , go to:  
<http://rstl.royalsocietypublishing.org/subscriptions>. *Philosophical Transactions*, *63*, 461–480.
- Weber, M., & Eisen, a a. (2002). Magnetic stimulation of the central and peripheral nervous systems. *Muscle Nerve*, *25*(2), 160–175. <http://doi.org/10.1002/mus.10038>
- Winkler, T., Hering, P., & Straube, a. (2010a). Spinal DC stimulation in humans modulates post-activation depression of the H-reflex depending on current polarity. *Clin Neurophysiol*, *121*(6), 957–961. [http://doi.org/S1388-2457\(10\)00054-4](http://doi.org/S1388-2457(10)00054-4)  
 [pii]r10.1016/j.clinph.2010.01.014
- Winkler, T., Hering, P., & Straube, a. (2010b). Spinal DC stimulation in humans modulates post-activation depression of the H-reflex depending on current polarity. *Clinical Neurophysiology*, *121*(6), 957–961. <http://doi.org/10.1016/j.clinph.2010.01.014>
- Woods, a. J., Antal, a., Bikson, M., Boggio, P. S., Brunoni, a. R., Celnik, P., ... Nitsche, M. a. (2015). *A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools*. *Clinical Neurophysiology*. International Federation of Clinical Neurophysiology.  
<http://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.11.012>
- Zhu, G.-Y., & Shen, Y. (1988). Sympathetic skin response: a new test to diagnose ejaculatory dysfunction. *The Journal of Urology*.

## 8 | AGRADECIMENTOS

---

«A frase 'a pessoa se fez sozinha' não existe, carece de veracidade. Todos nós somos feitos por outros milhares de pessoas.»

George Matthew Adams

Durante o VII curso de neurofisiologia clínica, entra uma senhora que trazia consigo elegância, sapiência e alguma fragilidade. Vi o meu Professor a caminhar velozmente (mais depressa que o habitual). Agarrou-lhe suavemente a mão e cumprimentou-a com 2 beijos lentos e meigos nas suas faces delicadas tenuamente claras.

Era clara a sua grande admiração e entusiasmo pela aquela chegada.

Mais tarde descobri ser a sua orientadora, a Professora Doutora Maria de Lurdes Sales Luís.

Nesse momento compreendi a minha dupla sorte!

### **Em primeiríssimo lugar, ao Prof. Doutor Mamede de Carvalho**

Ao mais brilhante profissional que conheço, de uma enorme dimensão humana, genuidade única, perspicácia clínica e clarividência impares.

Pela sua enorme paciência ...

O meu muito obrigado

Pela sua sabedoria e pelo ensino entusiasta e desafiador!

Pelo fascínio pelas neurociências que transporta e cultiva nos outros!

Pela orientação científica e pelo seu estar na vida.

Pela amizade

### **Em segundo, à Dra. Ana Rita Peralta**

Pelas conversas enriquecedoras, pelo apoio, pelas oportunidades e pela paciência.

Pela inteligência, ponderação e pela sua elegante simplicidade tão única e tão própria.

Pelas sábias palavras que contribuíram para me acalmar sempre que procurava orientação.

### **À Dra. Teresa**

Pela paciência e insistência no perfeccionismo.

Pelas pinceladas entusiastas de orientação estatística! Foi sem dúvida das experiências académicas mais enriquecedoras.

Pela partilha de ensinamentos e da sua entusiasmante visão sobre a vida.

### **Família neurológica – Dra. Cândida Barroso, Dra. Sónia Costa, Dra. Vânia Almeida e Dr. Alexandre Amaral e Silva, o Gil e Dra. Socorro Piñeiro e Ana Raposo**

Pelo carinho, pelas partilhas e risadas, pela motivação, por tornarem mais fácil a minha vida dupla. Pela possibilidade de crescimento quer profissional com individual!

### **À Xana – amiga inter- nacional e inter-distância**

Pelo optimismo crónico e fé inabalável em mim! Pelo quentinho da tua ciência, tão pouco científica, em ajudar as pessoas a serem felizes. Por descomplicares tudo o que eu complico!

### **À Inês**

Pela força e pela voz consciente e sábia que és

Pela nossa única amizade e infância conjunta

Pelos sermões, pela preocupação

### **Ao João**

Pelo carinho e longa amizade! Por fazeres parte da família! Por me aturares há muitos anos e desviares-me do trabalho...

### **À neuroamizade – Inês, Catarina, João, Germano, Mickael, Sara, Margarida, Ricardo, Jorge Alexandra Botelho, Cristina Varandas, Rui, e a todos os elementos da 14ª turma do mestrado/PhD Neurociências**

À Inês pelo abraço aconchegante e apertado que me permitiu respirar ao longo deste percurso. Pelas palavras que não necessitam ser ditas mas transmitias reconfortantemente  
Pelo apoio e grande carinho destes 2 anos.

Por tornarem tão fácil sentir-me em casa.

Catarina, João, Germano, Sofia – Carinho, companheirismo e pelas palavras de orientação e reconforto;  
Sara, Maggie, Ricardo, Mike – boa disposição e falta de juízo em alinharem nas minhas ideias; Alexandra e Cristina V. – pelo sentimento maternal; Jorge – por estes dois anos de aprendizagem humana; Cristina, Luísa, Sara B, Ana, Madalena, João G – pela aprendizagem, e amizade

**À Catarina Laborinho, Maria do Amparo, Marta, Filipa, Dona Fátima, Prof. Escalda, Nataniel, Cristiano, Vera e toda a equipa e família fisiológica!**

Pelo grande carinho, apoio e força!

Pela alegria matinal e companheirismo!

À Maria do Amparo por todos os abraços apertados, pelos conselhos, pelas palavras tratadas com carinho mas com sabedoria na correção deste trabalho! Mas acima de tudo pela honra da nossa amizade.

**A ti, Bruno**

Pela sincronização da frequência cardíaca quando surge o abraço, pela serenidade que a tua voz me transmite e pela grande compreensão que apresentas

Pelo caminho que já fizemos e por aquele que o futuro apresentará

**À minha família**

Pelos valores ideológicos e apoio.

Por permitirem sonhar e mostrarem que nada de tem de errado nisso.

À minha mãe – Pela tua teimosia pela vida e pela “luta pelo que desejas”

Ao meu pai - Apesar do teu silêncio sereno, obrigado pelo olhar de orgulho

Aos meus irmãos e à Bibiana, desculpem os momentos menos bons nos dias de maior cansaço

E a todos aqueles que de alguma forma, mais ou menos positiva me fazem crescer como ser humano e profissional todos os dias...

E por último, mas não menos importantes, a todos os voluntários (ainda que ingénuos) aceitaram de bom grado o desafio e que tornaram possível este trabalho! Muito Obrigado e peço desculpa por um ou outro estímulo mais doloroso!



## **9| LISTA DE ANEXOS**

---

**Anexo I** – Tabelas - Variáveis dependentes dos parâmetros neurofisiológicos estudados pós-estimulação tsdcs (momento T0). (sem diferenças significativas entre grupos)

**Anexo II** – Tabelas - Variáveis dependentes dos parâmetros neurofisiológicos estudados pós-estimulação tsdcs (momento T1). (sem diferenças significativas entre grupos)

**Anexo III** – Reflexo H – rectas de recrutamento (Gráficos)

**Anexo IV** – Reflexo H – Tabelas – variáveis dependentes do Reflexo H

**Anexo V** – Consentimento informado

**Anexo VI** – Imagens obtidas pelos autores no presente estudo

**Anexo VII** – Traçados obtidos pelos autores no presente estudo

Anexo I – Tabelas - Variáveis dependentes dos parâmetros neurofisiológicos estudados pós-estimulação tsdcs (momento T0).

**TABELA 1– VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PRE-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T0). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

Parâmetro neurofisiológico	Variável	Grupo	IC 95%	Valor de p	
<b>Onda M (PAMC)</b>	Latência média da onda M	<b>Sham</b> (2,40-4,20)	3,23±0,16	(2,88; 3,58)	p=0,481
		<b>Anódica</b> (2,60-5,80)	3,59± 0,27	(3,01; 4,16)	
		<b>Catódica</b> (2,70-4,90)	3,49±0,19	(3,09; 3,89)	
	Amplitude média da onda M	<b>Sham</b> (7,40-33,70)	21,74±1,87	(17,70;25,78)	p=0,778
		<b>Anódica</b> (24,50-32,10)	23,16±2,06	(18,70;27,60)	
		<b>Catódica</b> (6,70-35,20)	21,80±2,23	(16,99;21,80)	
	Duração média da onda M	<b>Sham</b> (3,30-6,30)	5,10 [ 3,30-6,30]	(4,49;5,47)	p=0,353
		<b>Anódica</b> (3,0-6,50)	4,75 [ 3-6,50]	(4,08;5,28)	
		<b>Catódica</b> (3,30-9,40)	5,3 [ 3,30-9,40]	(4,50;6,18)	
	Área média da onda M	<b>Sham</b> (4,80-44,50)	26,39±2,70	(20,56;32,22)	p=0,867
		<b>Anódica</b> (5,90-39,50)	27,12±2,37	(22;32,23)	
		<b>Catódica</b> (3,80-45,30)	24,76±3,09	(18,09;31,43)	

**Legenda:** Resultados são apresentados como média±desvio padrão, quando os dados têm uma distribuição normal. Quando esta situação não se verifica, os resultados são representados como mediana [mínimo-máximo];

IC95% - Intervalo de confiança a 95% (limite inferior; limite superior)

Valor de p – valor de p das variáveis dependentes com superior valor de nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.



**TABELA 1– VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PRE-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T0). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

<b>Parâmetro neurofisiológico</b>	<b>Variável</b>	<b>Grupo</b>	<b>IC 95%</b>	<b>Valor de p</b>	
<b>Onda F</b>	Latência mínima da onda F	<b>Sham</b> (37,30-54,50)	46,01±1,28	(43,25;48,78)	p=0,926
		<b>Anódica</b> (37,20-53,80)	45,57±1,11	(43,17;47,97)	
		<b>Catódica</b> (36,80-54,30)	46,24±1,28	(43,48;49,00)	
	Latência média da onda F	<b>Sham</b> (38,91-56,87)	48,38±1,28	(45,62;51,15)	p=0,939
		<b>Anódica</b> (38,61-56,83)	48,72±1,24	(46,39;51,40)	
		<b>Catódica</b> (40,14-56,96)	49,00±1,21	(46,40;51,62)	
	Latência máxima da onda F	<b>Sham</b> (41,20-60,00)	50,52±1,36	(47,60;53,44)	p=0,738
<b>Anódica</b> (41,0-59,20)		51,84±1,40	(48,82;54,87)		
<b>Catódica</b> (42,70-60,30)		51,84±1,30	(49,03;54,65)		
Amplitude da onda F	<b>Sham</b> (167,85-730,60)	326,93±45,74	(228,11;425,75)	p=0,081	
	<b>Anódica</b> (238,45-754,95)	396,11±35,99	(318,41;473,82)		
	<b>Catódica</b> (120,10-518,35)	296,48±29,87	(231,95;361,00)		
Cronodispersão (latência máxima- latência mínima)	<b>Sham</b> (3,0-8,0)	4,51±0,32	(3,81;5,21)	p=0,119	
	<b>Anódica</b> (3,20-15,80)	6,27±0,93	(4,25;8,29)		
	<b>Catódica</b> (3,0-9,20)	5,60±0,41	(4,70;6,50)		
Ratio F:M	<b>Sham</b> (0,68-4,66)	1,70± 0,30	(1,06;2,33)	p=0,453	
	<b>Anódica</b>	2,26± 0,56	(1,05;3,47)		

	(0,98-8,49) <b>Catódica</b> (0,82-4,65)	1,56± 0,27	(0,99;2,14)	
--	---	------------	-------------	--

**Legenda:** Resultados são apresentados como média±desvio padrão, quando os dados têm uma distribuição normal. Quando esta situação não se verifica, os resultados são representados como mediana [mínimo-máximo];

IC95% - Intervalo de confiança a 95% (limite inferior; limite superior)

Valor de p – valor de p das variáveis dependentes com superior valor de nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

**TABELA 1– VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PRE-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T0). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

Parâmetro neurofisiológico	Variável	Grupo	IC 95%	Valor de p	
TMS- PE	Limiar motor	<b>Sham</b> (50-100)	73,14±3,88	(64,76; 81,52)	p=0,942
		<b>Anódica</b> (52-100)	72,0±4,84	(61,33; 82,67)	
		<b>Catódica</b> (50-100)	71,14±3,97	(62,56; 79,72)	
	Latência média do PEM	<b>Sham</b> (29,71-38,75)	35,82±0,70	(34,30; 37,35)	p=0,666
		<b>Anódica</b> (30,22-40,19)	35,84±0,75	(35,01; 38,29)	
		<b>Catódica</b> (30,80-41,09)	36,65±0,76	(34,21; 37,47)	
	Latência mínima do PEM	<b>Sham</b> (27,50-37,80)	33,93±0,80	(32,19; 35,66)	p=0,524
		<b>Anódica</b> (30,20-38,90)	35,11±0,66	(33,67; 36,53)	
		<b>Catódica</b> (27,20-38,30)	34,10±0,88	(32,19; 36,00)	
	Amplitude média do PEM	<b>Sham</b> (0,17-1,10)	0,55±0,09	(0,36; 0,74)	p=0,301
<b>Anódica</b> (0,12-1,95)		0,82±0,14	(0,52; 1,12)		
<b>Catódica</b> (0,11-1,98)		0,73±0,13	(0,44; 1,01)		
Ratio PEM:M	<b>Sham</b> (6,32-71,62)	27,98±4,93	(17,33; 38,64)	p=0,581	

		<b>Anódica</b> (4,84-200)	47,23±13,66	(17,72; 76,75)	p=0,411
		<b>Catódica</b> (4,78-94,17)	38,88±7,54	(22,59; 55,17)	
	TCMC	<b>Sham</b> (9,81-14,12)	11,70±0,41	(10,81; 12,59)	
		<b>Anódica</b> (10,60-13,98)	12,28 ±0,26	(11,73; 12,84)	
		<b>Catódica</b> (9,47-13,64)	11,76±0,32	(11,07; 12,46)	
	TCMC mínimo	<b>Sham</b> (2,95-12,75)	9,81±0,72	(8,25; 11,37)	
<b>Anódica</b> (4,05-11,75)		10,74±0,26	(10,17; 11,31)		
<b>Catódica</b> (9,0-12,80)		10,02± 0,53	(8,88; 11,16)		

**Legenda:** Resultados são apresentados como média±desvio padrão, quando os dados têm uma distribuição normal. Quando esta situação não se verifica, os resultados são representados como mediana [mínimo-máximo];

IC95% - Intervalo de confiança a 95% (limite inferior; limite superior)

Valor de p – valor de p das variáveis dependentes com superior valor de nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

**TABELA 1– VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PRE-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T0). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

<b>Parâmetro neurofisiológico</b>	<b>Variável</b>	<b>Grupo</b>	<b>IC 95%</b>	<b>Valor de p</b>	
<b>Período de silêncio</b>	Duração média do PSC	<b>Sham</b> (80,09-216,63)	130,55±10,67	(107,50; 153,59)	p=0,971
		<b>Anódica</b> (90,63-186,18)	133,52±7,63	(117,03; 150,01)	
		<b>Catódica</b> (87,35-197,22)	131,80±7,21	(116,23; 147,36)	
	Duração mínima do PSC	<b>Sham</b> (73,30-160,0)	112,84±7,99	(95,00; 130,10)	p=0,854
		<b>Anódica</b> (78,20-169,0)	112,99±6,36	(99,26; 126,72)	
		<b>Catódica</b> (78,20-151,0)	108,32±5,43	(96,60; 120,04)	
	Ratio - Duração média do PSC: Amplitude do PEM	<b>Sham</b> (205,46-490,34)	347,90±65,93	(205,46; 490,46)	p=0,596
		<b>Anódica</b> (123,67-448,30)	285,99±75,13	(123,68; 448,30)	
		<b>Catódica</b> (141,81-452,13)	296,97±71,82	(141,81; 452,13)	
	Duração média do PSC rectificado	<b>Sham</b> (72,09-194,24)	120,42±10,02	(98,78; 142,07)	p=0,266
		<b>Anódica</b> (83,88-173,86)	120,60±6,24	(107,11; 134,08)	
		<b>Catódica</b> (71,73-154,04)	104,83±6,35	(91,10; 118,55)	
Duração mínimo do PSC rectificado	<b>Sham</b> (65,30-136,30)	103,90±6,99	(88,79; 119,00)	p=0,101	
	<b>Anódica</b> (67,80-123,10)	92,29±4,51	(82,52; 102,05)		
	<b>Catódica</b> (78,10-173,0)	108,74±7,62	(92,29; 125,20)		

**Legenda:** Resultados são apresentados como média±desvio padrão, quando os dados têm uma distribuição normal. Quando esta situação não se verifica, os resultados são representados como mediana [mínimo-máximo];  
 IC95% - Intervalo de confiança a 95% (limite inferior; limite superior)  
 Valor de p – valor de p das variáveis dependentes com superior valor de nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

**TABELA 1– VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PRE-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T0). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

Parâmetro neurofisiológico	Variável	Grupo	IC 95%	Valor de p	
<b>Respostas simpático-cutâneas</b>	Latência média das SSRs (ms)	<b>Sham</b> (1195-2415)	1833,93 ± 78,55	(1641,91; 2009,62)	p=0,314
		<b>Anódica</b> (1705-2280)	1965,38±55,75	(1843,91; 2086,86)	
		<b>Catódica</b> (1085-2125)	1775,0±81,97	(1597,9; 1952,1)	
	Amplitude média das SSRs	<b>Sham</b> (448,60-3755,0)	960,38 [448,60-3755,0]	(814,91; 2120,14)	p=0,696
		<b>Anódica</b> (166-3665,0)	996,45 [166-3665,0]	(577,62; 1712,56)	
<b>Catódica</b> (415,0-2395,0)		784,65 [415,0-2395,0]	(725,69; 1443,68)		
Área média das SSRs	<b>Sham</b> (566,70-4655,0)	1258,98 [566,70-4655,0]	(932,23; 2481,06)	p=0,859	
	<b>Anódica</b> (249,35-1182,64)	1034,70 [249,35-1182,64]	(752,88; 2182,2)		
	<b>Catódica</b> (583,40-2905,0)	1075,73 [583,40-2905,0]	(752,88; 1845,73)		
MSup. Latência média das SSRs (ms)	<b>Sham</b> (1285-2185)	1791,92±71,61	(1635,89; 1947,96)	p=0,451	
	<b>Anódica</b> (954,20-2495)	1930,71±125,06	(1658,22; 2203,19)		
	<b>Catódica</b> (1405-2345)	1939,29±68,78	(1790,68; 2087,88)		
Msup. Amplitude média das SSRs	<b>Sham</b> (268,6-3655)	1439,30±301,23	(782,97; 2095,63)	p=0,070	

		<b>Anódica</b> (167,90-2245,0)	782,09±160,86	(431,60; 1132,58)	
		<b>Catódica</b> (147,40-1910,0)	860,92±141,18	(555,92; 1165,92)	
	Msup. Area média das SSRs	<b>Sham</b> (348,10-3720,0)	1627,46±294,07	(986,74; 2268,17)	p=0,162
		<b>Anódica</b> (215,30-2895,0)	1029,45±207,56	(577,25; 1481,66)	
		<b>Catódica</b> (184,60-2585,0)	1123,90±180,80	(742,69; 1576,81)	

**Legenda:** Resultados são apresentados como média±desvio padrão, quando os dados têm uma distribuição normal. Quando esta situação não se verifica, os resultados são representados como mediana [mínimo-máximo];

IC95% - Intervalo de confiança a 95% (limite inferior; limite superior)

Valor de p – valor de p das variáveis dependentes com superior valor de nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

Anexo II – Tabelas - Variáveis dependentes dos parâmetros neurofisiológicos estudados pós-estimulação tsdcs (momento T1).

**TABELA 2 –VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PÓS-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T1). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

Parâmetro neurofisiológico	Variável	Grupo	IC 95%	Valor de p	
Onda M (PAMC)	Latência média da onda M	Sham (3,0-6,20)	3,40 [ 3-6,20]	(3,26; 4,23)	p=0,533
		Anódica (2,60-6,20)	3,85 [ 2,60-6,20]	(3,42; 4,59)	
		Catódica (2,80-4,30)	3,75 [ 2,80-4,30]	(3,44; 4,59)	
	Amplitude média da onda M	Sham (7,80-34,10)	22,96±2,0	(18,63; 27,28)	p=0,981
		Anódica (6,70-31,30)	23,09±1,96	(18,87;27,32)	
		Catódica (7,10-37,50)	23,42±2,23	(18,60;28,23)	
	Duração média da onda M	Sham (3,80-6,80)	5,36±0,27	(4,77;5,96)	p=0,149
		Anódica (3,20-6,60)	5,02±0,26	(4,47;5,57)	
		Catódica (3,80-6,70)	5,69±0,24	(5,17;6,22)	
	Área média da onda M	Sham (8,80-44,10)	29,40 [ 8,80-44,10]	(22,51;33,93)	p=0,889
		Anódica (3,60-41,30)	29,15 [ 3,60-41,30]	(23,50;34,05)	
		Catódica (8,70-51,90)	30,60 [ 8,70-51,90]	(24,23;37,17)	

**Legenda:** Resultados são apresentados como média±desvio padrão, quando os dados têm uma distribuição normal. Quando esta situação não se verifica, os resultados são representados como mediana [mínimo-máximo];

IC95% - Intervalo de confiança a 95% (limite inferior; limite superior)

Valor de p – valor de p das variáveis dependentes com superior valor de nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

**TABELA 2 – VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PÓS-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T1). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

Parâmetro neurofisiológico	Variável	Grupo	IC 95%	Valor de p	
<b>Onda F</b>	Latência mínima da onda F	<b>Sham</b> (36,50-55,70)	47,49±1,33	(44,61;50,36)	p=0,843
		<b>Anódica</b> (39,0-52,80)	47,69±1,07	(45,38;50,01)	
		<b>Catódica</b> (38,20-55,50)	48,43±1,20	(45,85;51,03)	
	Latência média da onda F	<b>Sham</b> (39,41-59,17)	50,24±1,38	(47,26; 53,22)	p=0,938
		<b>Anódica</b> (41,87-58,59)	50,58±1,20	(47,98;53,18)	
		<b>Catódica</b> (40,66-58,19)	50,89±1,281	(48,13;53,64)	
	Latência máxima da onda F	<b>Sham</b> (42,0-61,50)	53,30±1,51	(50,03;56,57)	p=0,928
<b>Anódica</b> (43,80-63,30)		54,11,84±1,52	(50,46;56,60)		
<b>Catódica</b> (42,80-60,80)		53,53±1,42	(50,82;57,40)		
Amplitude da onda F	<b>Sham</b> (137,80-594,15)	333,54±34,87	(258,22;408,87)	p=0,899	
	<b>Anódica</b> (198,75-418,55)	313,0±18,81	(272,38;353,63)		
	<b>Catódica</b> (133,35-639,85)	325,92±38,06	(243,70; 408,15)		
Cronodispersão (latência máxima- latência mínima)	<b>Sham</b> (1,0-10,10)	5,81±0,55	(4,62;7,0)	p=0,318	
	<b>Anódica</b> (3,20-12,50)	6,42±0,74	(4,82;8,03)		
	<b>Catódica</b> (1,0-8,70)	5,09±0,52	(3,97;6,21)		
Ratio F:M	<b>Sham</b> (0,70-5,76)	1,81±0,41	(0,92;2,71)	p=0,958	
	<b>Anódica</b>	1,72±0,42	(0,81;2,37)		



	(0,84-6,98) <b>Catódica</b> (0,60-5,48)	1,64±0,34	(0,91;2,37)
--	---	-----------	-------------

**Legenda:** Resultados são apresentados como média±desvio padrão, quando os dados têm uma distribuição normal. Quando esta situação não se verifica, os resultados são representados como mediana [mínimo-máximo];

IC95% - Intervalo de confiança a 95% (limite inferior; limite superior)

Valor de p – valor de p das variáveis dependentes com superior valor de nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

**TABELA 2 – VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PÓS-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T1). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

Parâmetro neurofisiológico	Variável	Grupo	IC 95%	Valor de p	
TMS- PE	Limiar motor	<b>Sham</b> (52-100)	72,21±3,91	(63,78; 80,65)	p=0,948
		<b>Anódica</b> (52-100)	72,93±4,69	(62,51; 83,15)	
		<b>Catódica</b> (52-100)	70,93±4,01	(62,26; 79,50)	
	Latência média do PEM	<b>Sham</b> (31,05-41,85)	36,50±0,88	(34,60; 38,40)	p=0,574
		<b>Anódica</b> (30,87-40,78)	37,45±0,79	(35,74; 39,19)	
		<b>Catódica</b> (30,71-40,64)	37,23±0,83	(35,44; 39,01)	
	Latência mínima do PEM	<b>Sham</b> (25,20-39,60)	34,64±1,06	(32,34; 36,94)	p=0,851
		<b>Anódica</b> (27,90-38,40)	34,94±0,84	(33,99; 36,67)	
		<b>Catódica</b> (30-38,30)	35,34±0,62	(33,16; 36,79)	
	Amplitude média do PEM	<b>Sham</b> (0,11-1,60)	0,66 [ 0,11-1,60]	(0,44; 1,03)	p=0,805
		<b>Anódica</b> (0,10-3,37)	0,81 [ 0,10-3,37]	(0,46; 1,44)	
		<b>Catódica</b> (0,10-2,63)	0,70 [ 0,10 -2,63]	(0,43; 1,33)	
Ratio PEM:M	<b>Sham</b> (4,98-102,56)	35,14±7,51	(18,92; 51,37)	p=0,733	

		<b>Anódica</b> (3,92-115,0)	44,50±9,5	(23,90; 65,08)	
		<b>Catódica</b> (4,20-97,18)	39,60±7,88	(22,57; 56,64)	
	TCMC	<b>Sham</b> (5,80-14,19)	11,39±0,59	(10,18; 12,59)	p=0,585
		<b>Anódica</b> (8,76-14,28)	11,66 ±0,44	(10,70; 12,61)	
		<b>Catódica</b> (9,41-15,88)	12,10±0,45	(11,12; 13,07)	
	TCMC mínimo	<b>Sham</b> (-1,10-12,05)	9,53±0,92	(7,54; 11,51)	p=0,594
		<b>Anódica</b> (7,40-12,90)	9,99±0,49	(8,92; 11,05)	
		<b>Catódica</b> (4,65-12,50)	9,40±0,61	(8,08; 10,72)	

**Legenda:** Resultados são apresentados como média±desvio padrão, quando os dados têm uma distribuição normal. Quando esta situação não se verifica, os resultados são representados como mediana [mínimo-máximo];

IC95% - Intervalo de confiança a 95% (limite inferior; limite superior)

Valor de p – valor de p das variáveis dependentes com superior valor de nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

**TABELA 2 –VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PÓS-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T1). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

<b>Parâmetro neurofisiológico</b>	<b>Variável</b>	<b>Grupo</b>	<b>IC 95%</b>	<b>Valor de p</b>	
<b>Período de silêncio</b>	Duração média do PSC	<b>Sham</b> (92,95-186,14)	139,55±8,39	(121,75; 157,66)	p=0,901
		<b>Anódica</b> (91,59-196,75)	139,97±8,55	(121,50; 158,44)	
		<b>Catódica</b> (90,91-249,42)	144,22±11,29	(119,82; 168,62)	
	Duração mínima do PSC	<b>Sham</b> (82,50-170,50)	120,90±7,31	(105,09; 136,71)	p=0,860
		<b>Anódica</b> (84,50-172,50)	119,44±8,96	(100,08; 138,80)	
		<b>Catódica</b> (82,80-213,80)	119,40±7,52	(103,16; 135,64)	
	Ratio - Duração média do PSC: Amplitude do PEM	<b>Sham</b> (100,24-1053,18)	353,96±88,50	(162,76; 545,16)	p=0,901
		<b>Anódica</b> (46,61-1246,40)	315,38±82,40	(111,0; 560,45)	
		<b>Catódica</b> (36,32-1424,40)	335,73±104,02	(138,15; 492,62)	
	Duração média do PSC retificado	<b>Sham</b> (77,11-208,78)	134,11 [ 77,11-208,78]	(105,81; 151,44)	p=0,263
		<b>Anódica</b> (88,02-184,82)	135,67 [ 88,02-184,82]	(119,55; 153,35)	
		<b>Catódica</b> (87,22-253,09)	110,12 [ 87,22-253,09]	(95,73; 145,16)	
Duração mínimo do PSC retificado	<b>Sham</b> (10,60-161,30)	101,80±10,21	(79,75; 123,85)	p=0,860	
	<b>Anódica</b> (75,90-135,0)	100,98±4,68	(87,41; 105,86)		
	<b>Catódica</b> (74,40-128,80)	96,64±4,27	(90,86; 111,09)		

**Legenda:** Resultados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão, quando os dados têm uma distribuição normal. Quando esta situação não se verifica, os resultados são representados como mediana [mínimo-máximo];

IC95% - Intervalo de confiança a 95% (limite inferior; limite superior)

Valor de p – valor de p das variáveis dependentes com superior valor de nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

**TABELA 2 –VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PÓS-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T1). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

<b>Parâmetro neurofisiológico</b>	<b>Variável</b>	<b>Grupo</b>	<b>IC 95%</b>	<b>Valor de p</b>	
<b>Respostas simpático-cutâneas</b>	Latência média das SSRs (ms)	<b>Sham</b> (1365-3460)	2130,71±139,90	(1828,46; 2432,97)	p=0,856
		<b>Anódica</b> (1760-2870)	2121,92±81,26	(1944,87; 2298,98)	
		<b>Catódica</b> (1600-3155)	2205,71±118,16	(1950,45; 2460,98)	
	Amplitude média das SSRs	<b>Sham</b> (959,63-1690)	905,59±132,40	(619,57; 1191,61)	p=0,621
		<b>Anódica</b> (166,0-1530,60)	741,75±125,91	(467,40; 1016,10)	
		<b>Catódica</b> (222,20-3535,0)	911,71±236,97	(399,77; 1423,66)	
	Area média das SSRs	<b>Sham</b> (302,20-2010,0)	1280,68 [ 302,20-2010]	(847,95; 1574,53)	p=0,587
<b>Anódica</b> (375,65-4335,0)		765,25 [ 375-4335,0]	(629,30; 1248,37)		
<b>Catódica</b> (2249,35-1880,0)		819,60 [ 2249,35-1880,0]	(640,34; 1967,60)		
MSup. Latência média das SSRs (ms)	<b>Sham</b> (1801,85-2247,43)	1791,92±71,61	(1635,89; 1947,96)	p=0,843	
	<b>Anódica</b> (1781,23-2322,79)	1930,71±125,06	(1658,22; 2203,19)		
	<b>Catódica</b> (1839,29-2400,87)	1939,29±68,78	(1790,68; 2087,88)		
Msup. Amplitude média das SSRs	<b>Sham</b> (159,90-2330,0)	930,15 [ 159,90-2330,0]	(687,47; 1543,56)	p=0,638	
	<b>Anódica</b> (286,15-1820)	887,55 [ 286,15-1820]	(539,16; 1086,36)		
	<b>Catódica</b> (178,25-5360,50)	629,25 [ 178,25-5360,50]	(354,53; 2182,53)		
Msup. Area média das SSRs	<b>Sham</b> (209,60-2795,0)	1138,33 [ 209,60-2795,0]	(918,14; 1916,52)	p=0,520	
	<b>Anódica</b>	1040,15 [ 265,55-4360,0]	(713,74; 1318,31)		

		(265,55-4360,0)		
		<b>Catódica</b> (373,20-2555,0)	740,50 [ 373,20-2555,0]	(568,50; 1947,52)

**Legenda:** Resultados são apresentados como média±desvio padrão, quando os dados têm uma distribuição normal. Quando esta situação não se verifica, os resultados são representados como mediana [mínimo-máximo];

IC95% - Intervalo de confiança a 95% (limite inferior; limite superior)

Valor de p – valor de p das variáveis dependentes com superior valor de nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

### Anexo III – Reflexo H – rectas de recrutamento (Gráficos)

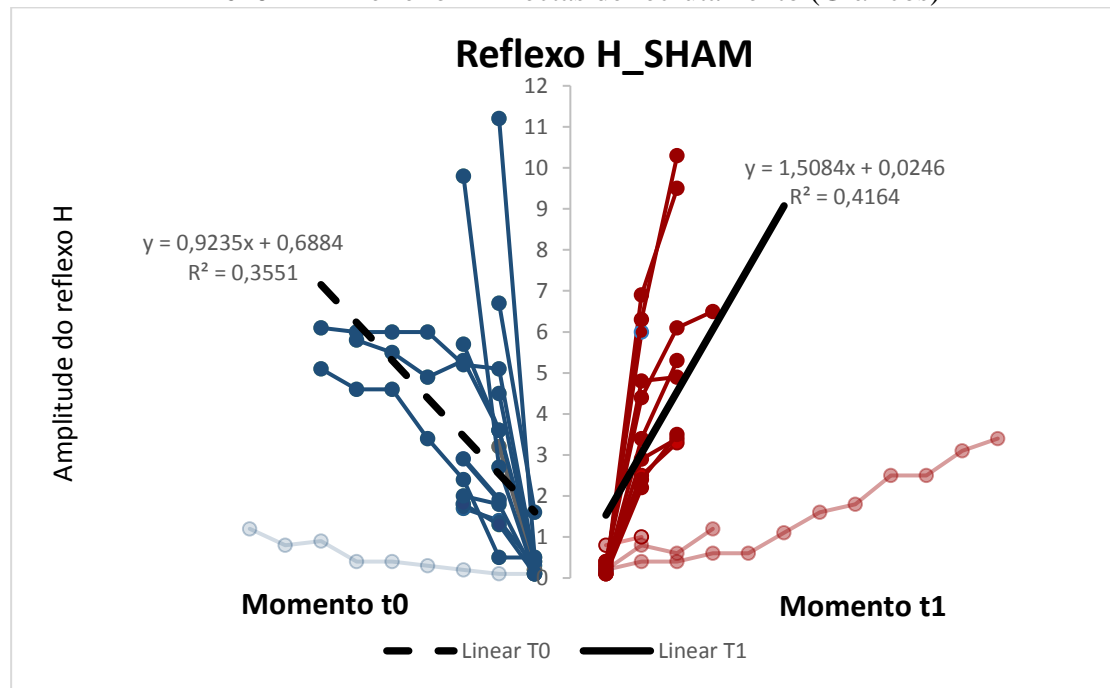


FIGURA 1 – Reflexo H, comportamento ascendente do recrutamento do reflexo H por indivíduo, no momento t0 e em t1, após a aplicação da tsDCS sham. Dados estão expressos em amplitude absoluta ( $\mu\text{V}$ ) por múltiplos de 1 do limiar do reflexo H (N=14, excepto na presença de *outliers*, representados em tom claro nos gráficos )

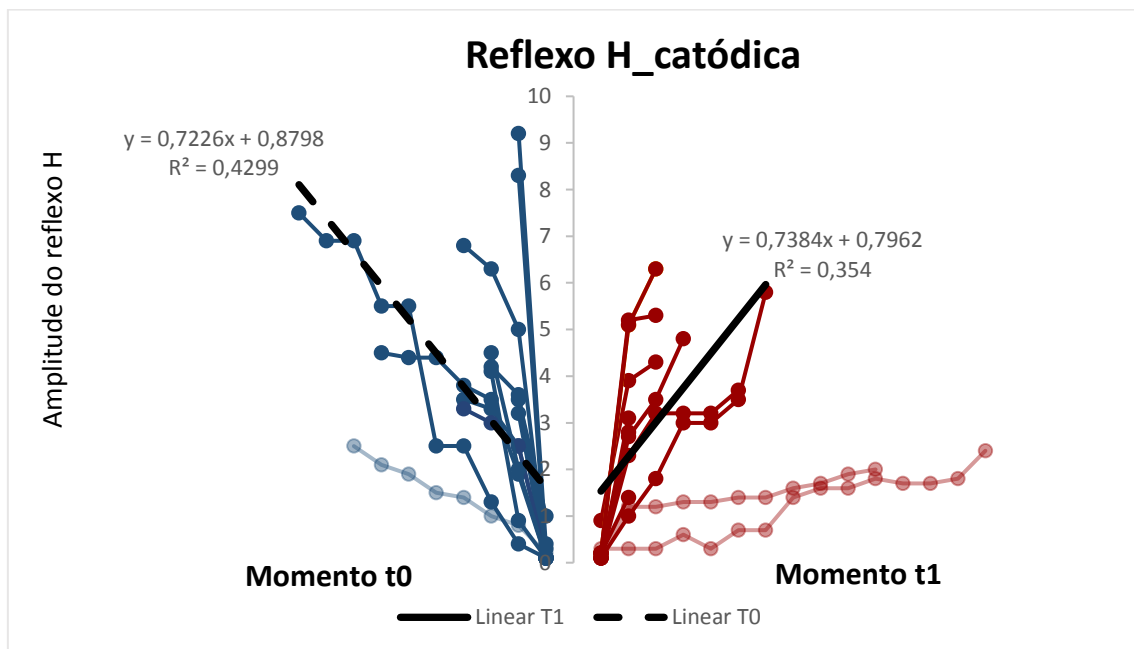


FIGURA 2 – Reflexo H, comportamento ascendente do recrutamento do reflexo H por indivíduo, no momento t0 e em t1, após a aplicação da tsDCS catódica. Dados estão expressos em amplitude absoluta ( $\mu\text{V}$ ) por múltiplos de 1 do limiar do reflexo H (N=14, excepto na presença de *outliers*, representados em tom claro nos gráficos )

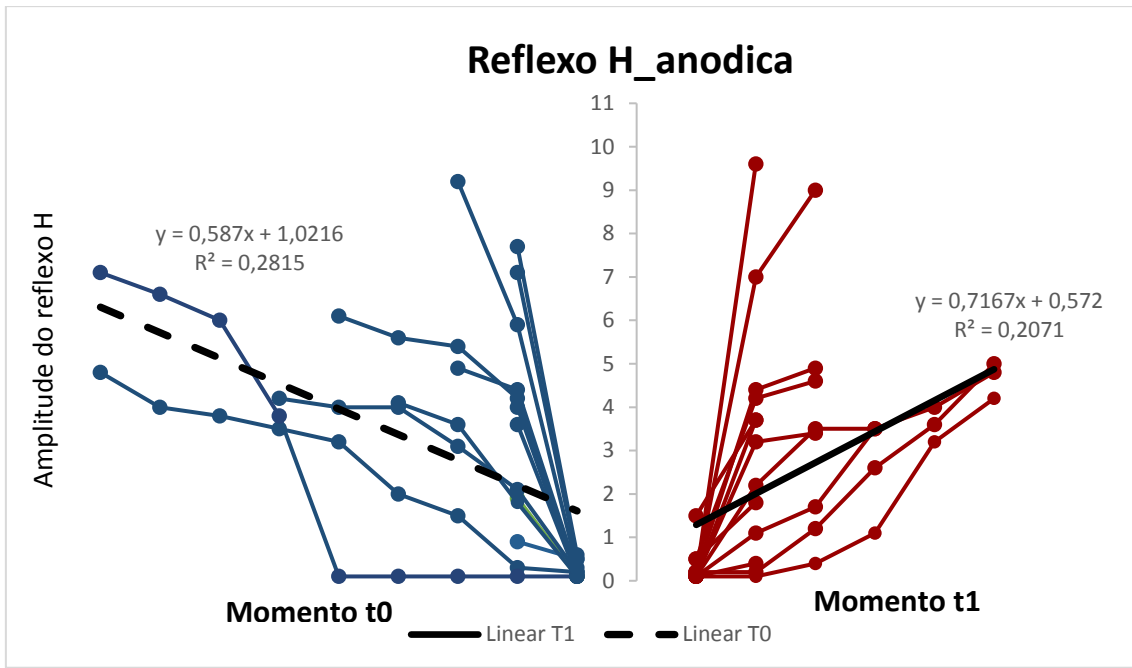


FIGURA 3 – Reflexo H, comportamento ascendente do recrutamento do reflexo H por indivíduo, no momento t0 e em t1, após a aplicação da tsDCS anódica. Dados estão expressos em amplitude absoluta ( $\mu\text{V}$ ) por múltiplos de 1 do limiar do reflexo H (N=14, excepto na presença de *outliers*, representados em tom claro nos gráficos)



**Anexo IV – Reflexo H – Tabelas dependentes do Reflexo H**

**TABELA 1- VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PRÉ E PÓS-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T0 →T1). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

REFLEXO H	Nº	T0			T1		
		Limiar	[mínimo-máximo]	Declive da slope (n)	Limiar	[mínimo-máximo]	Declive da slope (n)
Sham	1	8	[ 0,5-5,1]	0,8643 (7)	3,4	[ 0,3-3,3]	1,5 (3)
	2	5,3	[ 0,1-5,7]	2,8 (3)	3	[ 0,4-4,9]	2,25 (3)
	3	2,8	[ 0,2-4,5]	4,3 (2)	2,3	[ 0,1-2,2]	2,1 (2)
	4	4	[ 1,6-6,7]	5,1 (2)	3,8	[ 0,1-9,5]	4,7 (3)
	5	5,8	[ 0,3-1,7]	0,7 (3)	5,2	[ 0,2-1,2]	0,28 (4)
	6	12,1	[ 0,1-1,2]	0,133 (9)	12,8	[ 0,2-3,4]	0,307 (12)
	7	2,3	[ 0,2-3,2]	3 (2)	2,5	[ 0,2-6]	5,8 (2)
	8	10	[ 0,4-6,1]	0,7036 (7)	8,8	[0,4-6,5]	2 (4)
	9	2,6	[ 0,1-1,8]	0,85 (3)	3,2	[0,2-5,3]	2,55 (3)
	10	2	[ 0,1-9,8]	4,85 (3)	2,5	[0,1-10,3]	5,1 (3)
	11	1,8	[ 0,5-11,2]	10,7 2	4,7	-	-
	12	5	[ 0,23-2,9]	1,3 (3)	4,7	[0,3-3,5]	1,6 (3)
	13	5,6	[ 0,1-2]	0,95 (3)	5	[0,2-3,4]	1,6 (3)
	14	4,1	[ 0,4-5,8]	0,9229 (6)	4,9	[0,8-1]	0,2 (2)
Linha de tendência de todos os pontos						<b>0,9235 *</b> <b>(0,1391)</b>	<b>0,7879*</b> <b>(0,4979)</b>

Legenda: Resultados são apresentados em valores absolutos, no caso do limiar e o declive da recta ou em forma de intervalo [mínimo-máximo] para a amplitude da resposta \* corrigida

**TABELA 2– VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PRÉ E PÓS-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T0 →T1). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

REFLEXO H	Nº	T0			T1		
		Limiar	[mínimo-máximo]	Declive da slope (n)	Limiar	[mínimo-máximo]	Declive da slope (n)
Anódica	1	4,1	[0,1-6,1]	1,34 (5)	3,8	[-]	- -
	2	3,3	[0,2-4,9]	2,35 (3)	3,5	[0,2-4,9]	2,35 (3)
	3	2	[0,1-5]	3,5 (3)	1,5	[0,1-1,3]	0,3 (4)
	4	3,3	[0,1-3,8]	1,8 (3)	1,9	[0,5-4,6]	2,05 (3)
	5	X	[0,5-0,9]	0,4 (2)	5	[0,5-1,8]	1,3 (2)
	6	24	[0,2-4,8]	0,5933 (9)	9,1	[0,2-5]	1,0171 (6)
	7	1,9	[0,6-7,7]	7,1 (2)	3	[0,1-9,6]	9,5 (2)
	8	10,6	[0,2-4,2]	0,76 (6)	11	[0,1-4,8]	0,8257 (6)
	9	4,8	[0,1-7,1]	1,05 (9)	2,3	[0,1-4,2]	0,8714 (6)
	10	4,1	[0,3-9,2]	4,45 (3)	4,1	[0,2-9]	4,4 (3)
	11	X	[0,5-7,1]	6,6 (2)	X	[1,5-3,7]	2,2 (2)
	12	3,8	[0,1-3,6]	1,75 (3)	4,8	[0,1-3,4]	1,65 (3)
	13	4,3	[0,1-4]	3,9 (2)	3,5	[0,1-3,7]	3,6 (2)
	14	7,5	[0,1-4,1]	1,38 (4)	7	[0,1-3,5]	1,08 (4)
Linha de tendência de todos os pontos					0,7167		0,587

Legenda: Resultados são apresentados em valores absolutos, no caso do limiar e o declive da recta ou em forma de intervalo [mínimo-máximo] para a amplitude da resposta \* corrigida

**TABELA 3 – VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PRÉ E PÓS-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T0 →T1). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

REFLEXO H	Nº	T0			T1		
		Limiar	[mínimo-máximo]	Declive da slope (n)	Limiar	[mínimo-máximo]	Declive da slope (n)
Catódica	1	3,8	[ 0,1-4,1]	2 (3)	3,6	[ 0,9-4,3]	1,7 (3)
	2	3,6	[ 0,1-8,3]	8,2 (2)	3,4	[ 0,2-6,3]	3,05 (3)
	3	4,4	[ 1-3,5]	2,5 (2)	3,6	-	- -
	4	3,9	[ 0,1-3,2]	3,1 (2)	3,5	[ 0,1-3,1]	3 (2)
	5	-	[ -]	- -	3,4	[ 0,2-1,4]	1,2 (2)
	6	9	[ 0,2-2,5]	0,3024 (8)	9,1	[ 0,3-3,8]	0,1511 (17)
	7	6	[ 0,1-3,5]	1,1 (4)	3	[ 0,2-5,3]	2,55 (3)
	8	9,1	[ 0,1-4,5]	0,6821 (7)	9,7	[ 0,1-3,7]	0,5914 (6)
	9	4,6	[ 0,1-3,3]	1,01 (4)	5,3	[ 0,2-2,8]	2,6 (2)
	10	3,8	[ 0,1-6,8]	2,14 (4)	3,8	[ 0,2-6,3]	3,05 (3)
	11	3,6	[ 0,3-9,2]	- (2)	2,7	-	- -
	12	4,9	[ 0,4-4,2]	1,9 (3)	3,4	[ 0,1-4,8]	1,49 (4)
	13	2,4	[ 0,1-4,5]	2,2 (3)	2,4	[ 0,1-2]	0,1318 (11)
	14	5	[ 0,1-7,5]	0,9218 (10)	4,5	[ 0,1-5,8]	0,8321 (7)
Linha de tendência de todos os pontos					0,7226* (0,1527)	0,7384 * (0,0412)	

Legenda: Resultados são apresentados em valores absolutos, no caso do limiar e o declive da recta ou em forma de intervalo [mínimo-máximo] para a amplitude da resposta \* corrigida

**TABELA 1– VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PRE E APOS-ESTIMULAÇÃO tsDCS. AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

Parâmetro neurofisiológico	Variável	Grupo	T0	T1	Valor de p
<b>Reflexo H</b>	Limiar do H	Sham	5,10±2,56	4,77 ±2,85	p=0,481
		Anódica	6,14±6,11	4,62±2,94	p=0,250
		Catódica	4,86±1,96	4,39±2,24	p=0,080
	Ratio M/H	Sham	1,98±2,56	3,59± 0,27	p=0,473
		Anódica	1,57± 1,37	1,61±1,52	p=0,871
		Catódica	1,31±1,14	1,61±1,44	p=0,181

**Legenda:** Resultados são apresentados como média±desvio padrão, quando os dados têm uma distribuição normal. Quando esta situação não se verifica, os resultados são representados como mediana [mínimo-máximo];

IC95% - Intervalo de confiança a 95% (limite inferior; limite superior)

Valor de p – valor de p das variáveis dependentes com superior valor de nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05.

**TABELA 1- VARIÁVEIS DEPENDENTES DOS PARÂMETROS NEUROFISIOLÓGICOS ESTUDADOS PRÉ E PÓS-ESTIMULAÇÃO tsDCS (momento T0 →T1). AS VARIÁVEIS AQUI DESCRITAS NÃO APRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE GRUPOS.**

Parâmetro neurofisiológico	Variável	Grupo	T0 - Resultados	T1- Resultados	Valor p	Bonferroni
<b>Onda M (PAMC)</b>	Latência média da onda M	Sham	3.23±0.60	3.74±0.84	p=0.305	-
		Anódica	3.49±0.70	3.70±0.45	p=0.064	-
		Catódica	3.57±0.99	4.00±1.01	<b>p=0.013</b>	<b>p=0,156</b>
	Amplitude média da onda M	Sham	21.74±6.99	22.96±7.50	p=0.416	-
		Anódica	21.80±2.23	23.42±8.34	p=0.921	-
		Catódica	23.16±7.72	23.09±7.32	p=0.111	-
	Duração média da onda M	Sham	4.98±0.85	5.36±1.03	p=0.305	-
		Anódica	5.34±1.44	5.69±0.90	p=0.101	-
		Catódica	4.69±1.04	5.02±0.95	p=0.081	-
	Área média da onda M	Sham	26.39±10.01	28.22±9.89	p=0.081	-
		Anódica	24.76±11.55	30.70±11.21	p=0.158	-
		Catódica	27.12±8.86	28.78±9.14	p=0.132	-
<b>Onda F</b>	Amplitude média da onda F	Sham	326.93±171.15	333.55±130.46	p=0.856	-
		Anódica	296.48±111.76	325.92±142.41	p=0.177	-
		Catódica	396.11±134.58	313±70.37	<b>p=0.011</b>	P=0,132
	Cronodispersão	Sham	4.50±1.21	5.81±2.07	<b>p=0.023</b>	P=0,096
		Anódica	5.09±1.94	5.60±1.55	p=0.388	-
		Catódica	6.27±3.49	6.42±2.79	p=0.900	-
<b>PEM</b>	Latência mínima do PEM	Sham	33.93±3.00	34.64±3.98	p=0.444	-
		Anódica	35.10±2.46	34.97±3.14	p=0.783	-
		Catódica	34.10±3.29	35.33±2.32	p=0.089	-
	Amplitude média do PEM	Sham	0.55±0.33	0.76±0.51	p=0.117	-
		Anódica	0.73±0.49	0.88±0.78	p=0.275	-
		Catódica	0.82±0.52	0.95±0.85	p=0.551	-
	Ratio PEM:M	Sham	27.98±18.45	35.14±28.10	p=0.201	-
		Anódica	38.88±28.21	39.60±29.50	p=0.915	-
	Catódica	47.23±51.117	44.49±35.66	p=0.775	-	
	Sham	9.80±2.70	9.52±3.43	p=0.792	-	

	TCMC mínimo	<b>Anódica</b>	10.73±0.99	9.40±2.28	p=0.023	P=0,138
		<b>Catódica</b>	10.02±1.98	9.97±1.84	p=0.944	-
<b>Período de silêncio cortical (PSC)</b>	Duração média do PSC	<b>Sham</b>	130.55±39.91	139.70±31.10	p=0.390	-
		<b>Anódica</b>	131.80±26.96	144.22±42.25	p=0.051	-
		<b>Catódica</b>	133.52±28.57	137.97±31.99	p=0.475	-
	Duração mínima do PSC	<b>Sham</b>	112.84±29.87	120.90±27.38	p=0.405	-
		<b>Anódica</b>	108.32±20.30	119.40±33.53	p=0.193	-
		<b>Catódica</b>	122.99±23.78	119.40±28.13	p=0.468	-
	Duração média do PSC rectificado	<b>Sham</b>	120.43±37.49	128.23±39.51	p=0.253	-
		<b>Anódica</b>	104.82±23.77	120.71±43.26	p=0.199	-
		<b>Catódica</b>	136.45±29.27	120.60±23.35	p=0.071	-
	Duração mínima do PSC rectificado	<b>Sham</b>	103.90±26.16	101.80±38.20	p=0.784	-
		<b>Anódica</b>	85.21±26.50	96.63±15.98	p=0.119	-
		<b>Catódica</b>	100.98±17.52	108.74±28.50	p=0.263	-
<b>Respostas Simpático- cutâneas</b>	Duração média das SSRs	<b>Sham</b>	1811.60±278.19	2107.40±449.03	p=0.06	-
		<b>Anódica</b>	1930.17±336.95	2077.05±376.80	p=0.086	-
		<b>Catódica</b>	2189.84±453.84	1859.40±303.56	p=0.02	p=0,24

## Anexo V – Consentimento informado

CENTRO HOSPITALAR  
LISBOA NORTE, EPE



Hospital  
PulidoValente



### Declaração de consentimento informado

Conforme a lei 67/98 de 26 de Outubro e a “Declaração de Helsínquia” da Associação Médica Mundial (Helsínquia 1964; Tóquio 1975; Veneza 1983; Hong Kong 1989; Somerset West 1996, Edimburgo 2000; Washington 2002, Tóquio 2004, Seul 2008, Lorenza 2013) – quando se aplicar

**Designação do Estudo:** “Estimulação espinal transcutânea por corrente directa na modulação da excitabilidade do sistema motor”

Eu, abaixo-assinado \_\_\_\_\_, fui informado de que o Estudo de Investigação acima mencionado se destina a identificar possíveis alterações da excitabilidade motora após sessão de estimulação por corrente directa da região medular lombar. Foi-me explicado que a estimulação em este estudo a aplicar consiste aplicar uma corrente de muito baixa intensidade na região lombar, não condicionando dor assim como a estimulação dos nervos periféricos.

Sei que neste estudo está prevista a realização de 3 sessões de estimulação por corrente directa e a realização de exames electroneurográficos aos membros inferiores tendo-me sido explicado em que consistem e quais os seus possíveis efeitos.

Foi-me garantido que todos os dados relativos à identificação dos Participantes neste estudo são confidenciais e que será mantido o anonimato.

Sei que posso recusar-me a participar ou interromper a qualquer momento a participação no estudo, sem nenhum tipo de penalização por este facto.

Compreendi a informação que me foi dada, tive oportunidade de fazer perguntas e as minhas dúvidas foram esclarecidas.

Aceito participar de livre vontade no estudo acima mencionado.

Concordo que sejam efectuados os exames que fazem parte deste estudo.

Também autorizo a divulgação dos resultados obtidos no meio científico, garantindo o anonimato.

Nome do Investigador: Prof. Doutor Mamede de Carvalho

Contacto: [mamedealves@medicina.ulisboa.pt](mailto:mamedealves@medicina.ulisboa.pt)

Data

\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Assinatura

\_\_\_\_\_



**Anexo VI** – Imagens obtidos pelos autores no presente estudo



**Anexo VII** – Traçados obtidos pelos autores no presente estudo



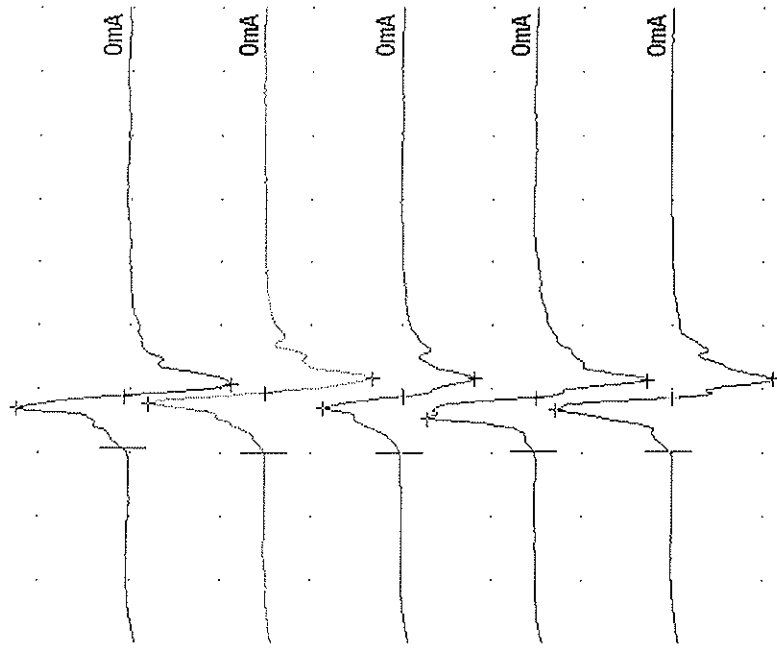
CV Motor Right Martins nnerv1

Office tatiana morais (301)  
01/01/92 08/10/15

Rec: Rec pos 0.5 mV/D

10 ms/D

Dist	Pos.	dLAT/CV	AMP	AREA	DUR
Dist	Pos. 1	30.6	1.2 4 %	1.7 18 %	8.3 12 %
Dist	Pos. 2	30.0	1.2 -33 %	2.1 -27 %	9.3 -5 %
Dist	Pos. 3	29.9	0.8 48 %	1.5 43 %	8.8 -5 %
Dist	Pos. 4	30.2	1.2 -2 %	2.1 -7 %	8.4 -1 %
Dist	Pos. 5	30.2	1.2	2.0	8.3



Run 1 2 3 Mix AllCh Note

LeaRt H-reflex Edit texts

TEMP ---

CV Motor

Right Martins nnerv1

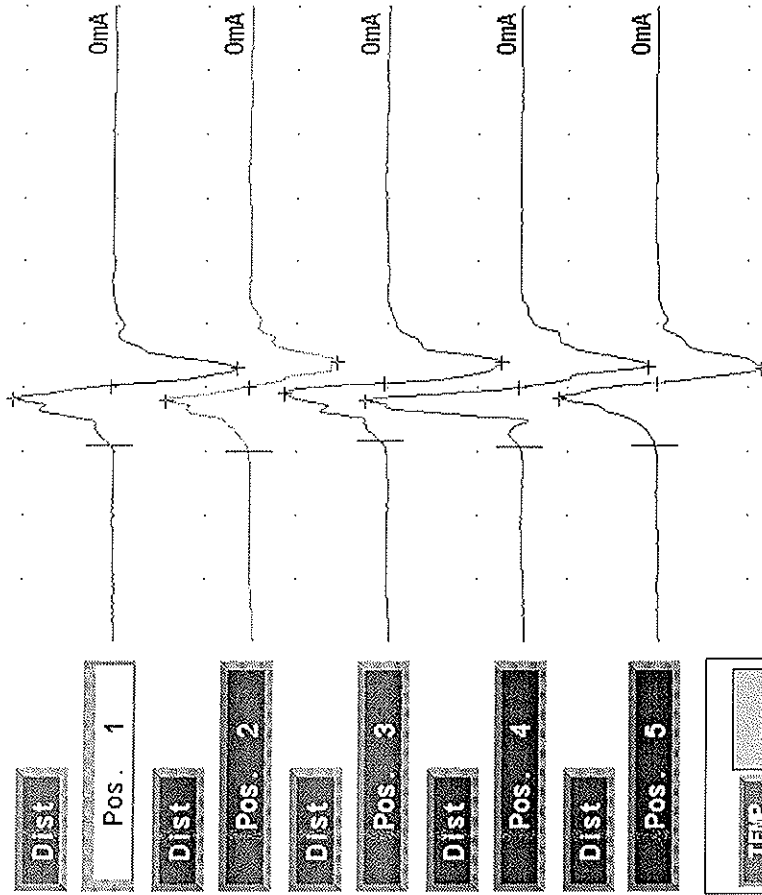
Office

tatiana morais (302)  
01/01/92 08/10/15

Rec: Rec pos

0.5 mV/D

10 ms/D



Dist	dLAT/CV	AMP	AREA	DUR
Pos. 1	31.0	1.2	2.0	9.3
Dist		-24 %	-14 %	9 %
Pos. 2	30.0	0.9	1.7	10.1
Dist		27 %	23 %	-10 %
Pos. 3	31.5	1.2	2.1	9.1
Dist		31 %	24 %	2 %
Pos. 4	30.8	1.6	2.6	9.3
Dist		-28 %	-22 %	5 %
Pos. 5	31.0	1.1	2.0	9.7

RUN 1 2 3

Mix

AllCh

Note

Learn

Hot text

Edit texts

TEMP ---

H-reflex

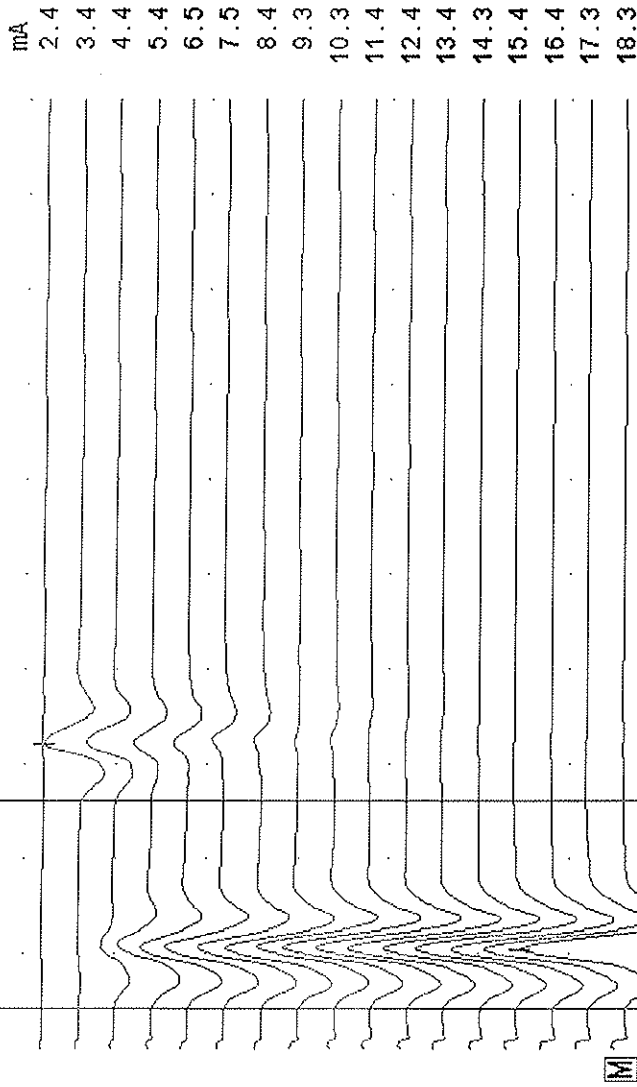
Left Tibialis

Office

tatiana morais (301)  
01/01/92 08/10/15

10 mV/D

10 ms/D



#Stim	: 17
M-lat	: 4.2 [ms]
M-ampl	: 11.5 [mV]
H-lat	: 26.2 [ms]
H-ampl	: 4.0 [mV]
H-M lat	: 22.0 [ms]
M-amp	: 2.8
H-amp	

mA  
2.4  
3.4  
4.4  
5.4  
6.5  
7.5  
8.4  
9.3  
10.3  
11.4  
12.4  
13.4  
14.3  
15.4  
16.4  
17.3  
18.3

H-reflex

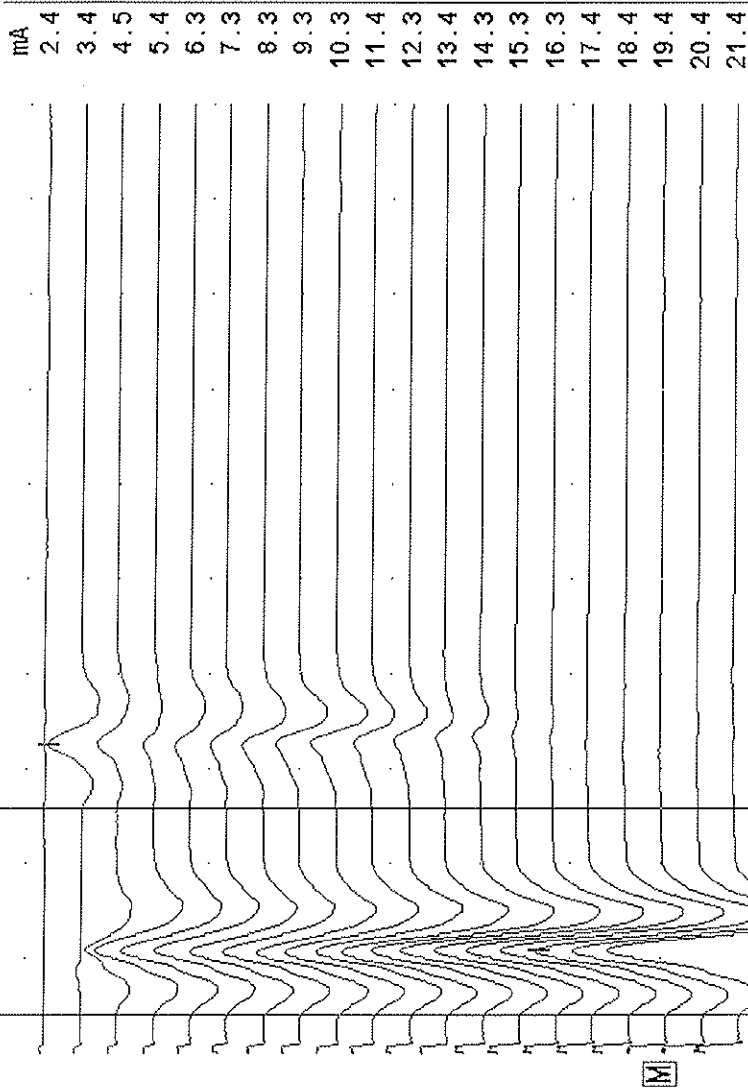
Left Tibialis

Office

tatiana morais (302)  
01/01/92 08/10/15

10 mV/D

10 ms/D



#Stim : 20

M-lat : 4.0 [ms]

M-ampl : 13.5 [mV]

H-lat : 25.8 [ms]

H-ampl : 3.7 [mV]

H-M Lat : 21.8 [ms]

M-amp : 3.6

H-amp

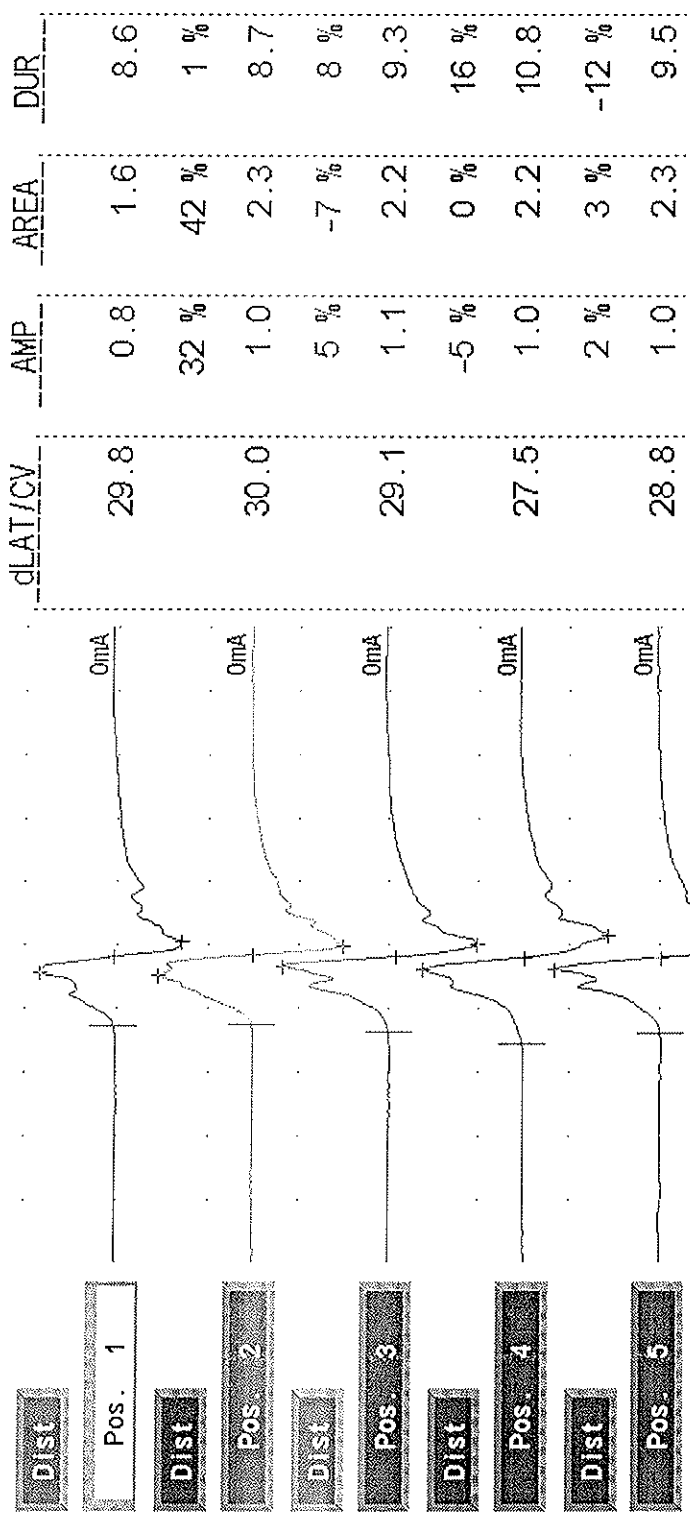
CV Motor

Right Martins nerv1

Office tatiana morais (286)  
01/01/92 18/06/15

Rec: Rec pos 0.5 mV/D

8 ms/D



Run 1 2 3 Mix AtCh Note

Le&Rt H-reflex Edit texts

TEMP



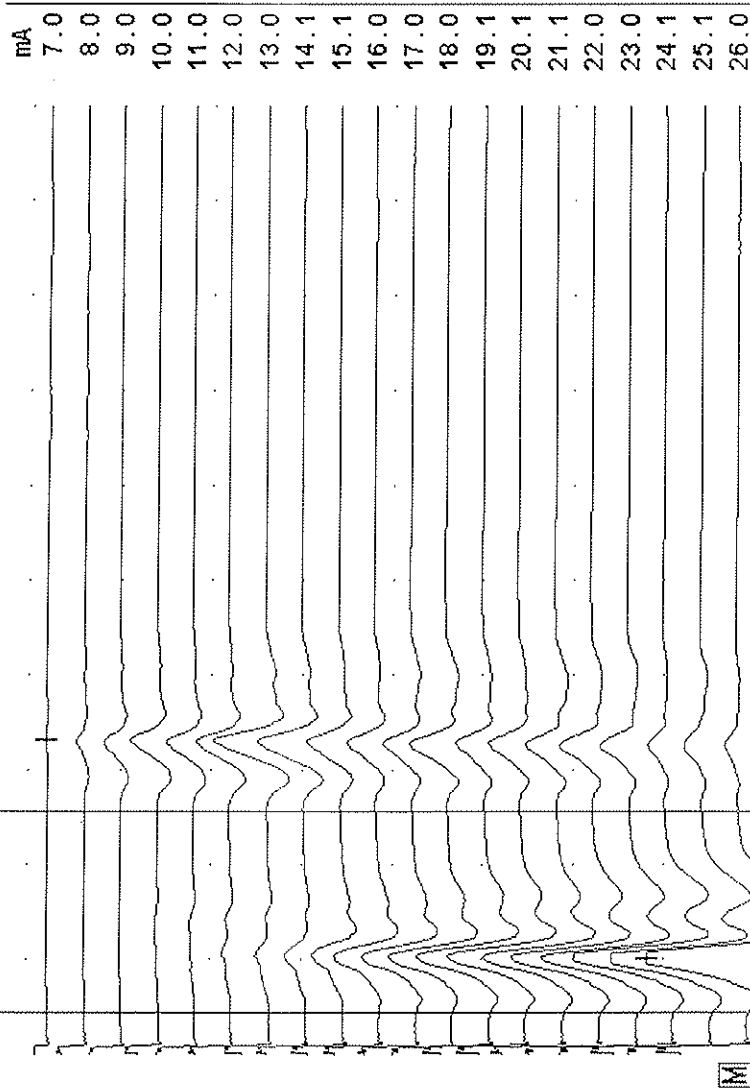
H-reflex

Right Tibialis

Office claudia afonso (310)  
21/06/89 15/10/15

10 mV/D

10 ms/D



#Stim	: 20
M-lat	: 4.3 [ms]
M-ampl	: 10.0 [mV]
H-lat	: 25.7 [ms]
H-ampl	: 0.1 [mV]
H-M lat	: 21.3 [ms]
M-amp	: 78.1
H-amp	

H-reflex

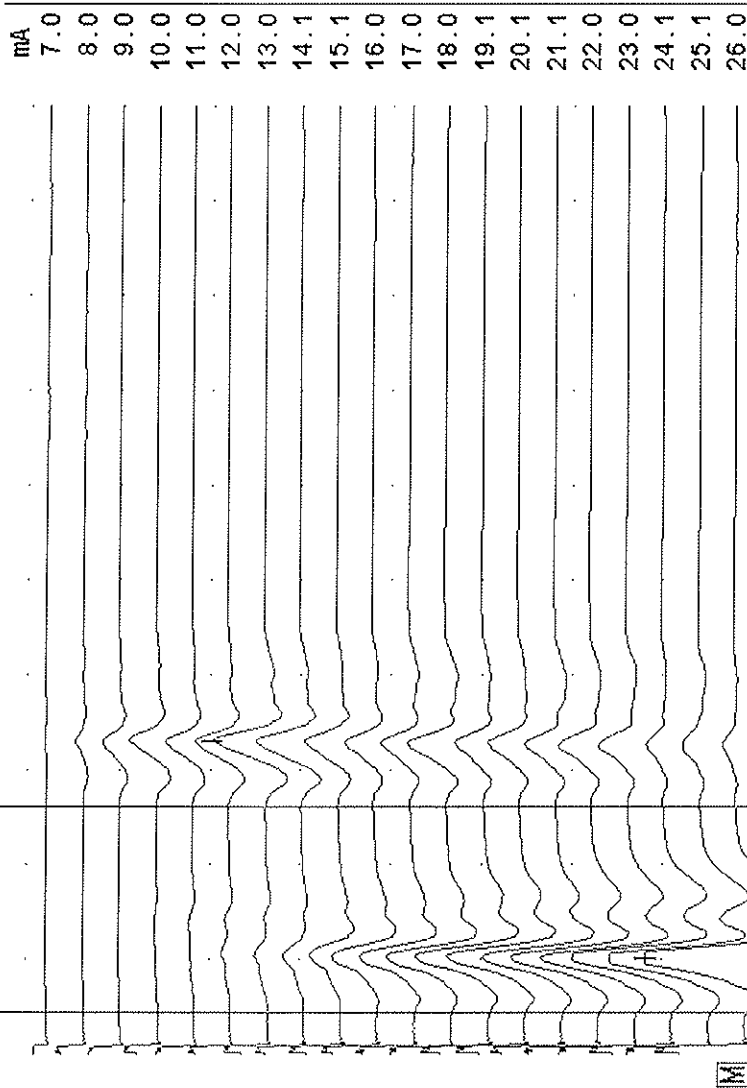
Right Tibialis

Office

claudia afonso (310)  
21/06/89 15/10/15

10 mV/D

10 ms/D



#Stim : 20

M-lat : 4.3 [ms]

M-ampl : 10.0 [mV]

H-lat : 26.2 [ms]

H-ampl : 5.8 [mV]

H-M lat : 21.8 [ms]

M-amp : 1.7

H-amp

M

H-reflex

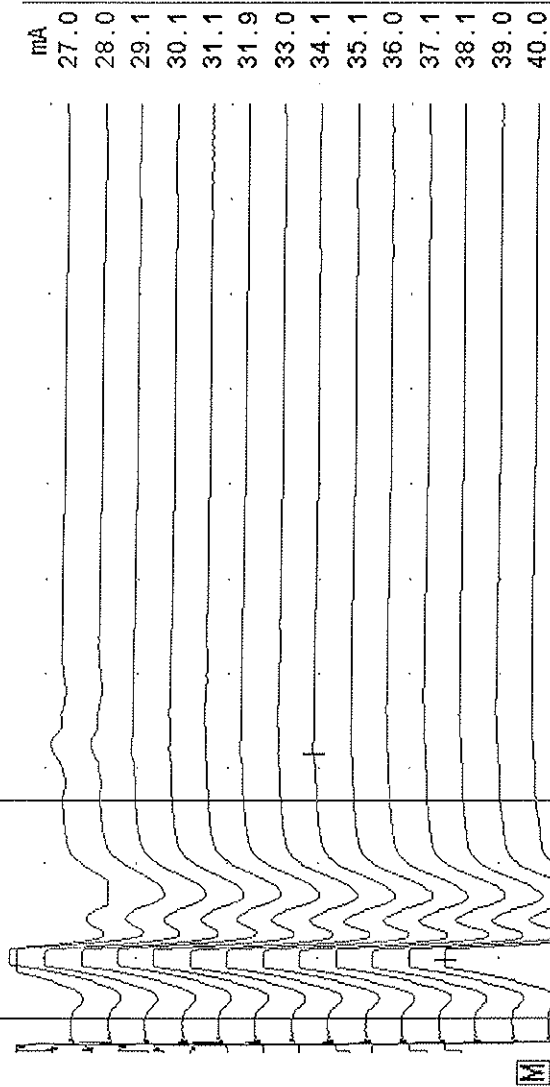
Left Tibialis

Office

claudia afonso (310)  
21/06/89 15/10/15

10 mV/D

10 ms/D



#Stim	: 14
M-lat	: 3.7 [ms]
M-ampl	: 10.0 [mV]
H-lat	: 26.5 [ms]
H-ampl	: 0.5 [mV]
H-M lat	: 22.8 [ms]
M-amp	: 20.5
H-amp	

H-reflex

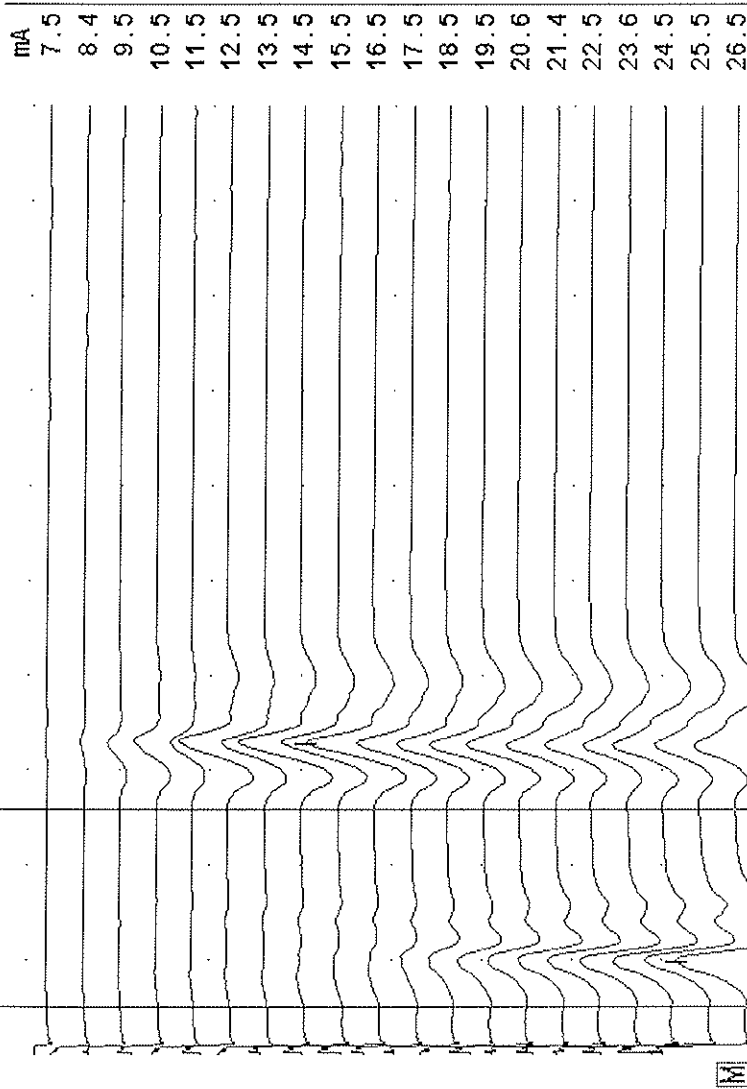
Right Tibialis

Office

claudia afonso (309)  
21/06/89 15/10/15

10 mV/D

10 ms/D



#Stim	: 20
M-lat	: 5.0 [ms]
M-ampl	: 6.5 [mV]
H-lat	: 25.8 [ms]
H-ampl	: 7.5 [mV]
H-M lat	: 20.8 [ms]
M-amp	: 0.9
H-amp	

M

H-reflex

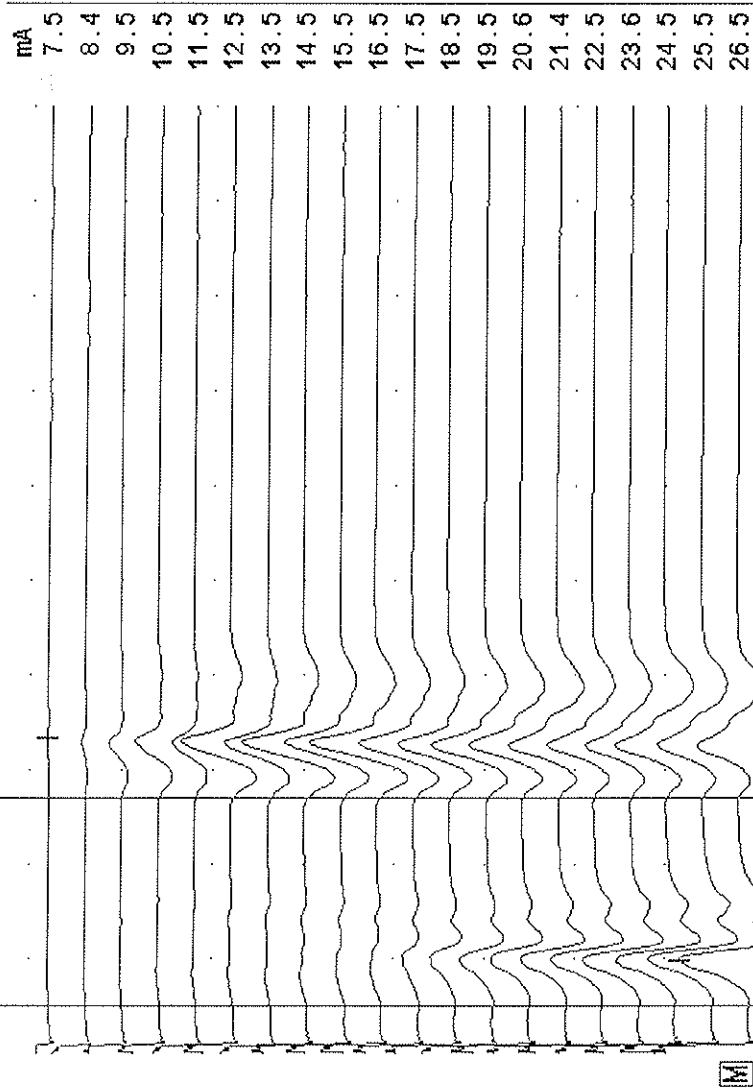
Right Tibialis

Office

claudia afonso (309)  
21/06/89 15/10/15

10 mV/D

10 ms/D



#Stim	:	20
M-lat	:	5.0 [ms]
M-ampl	:	6.5 [mV]
H-lat	:	27.0 [ms]
H-ampl	:	0.1 [mV]
H-M lat	:	22.0 [ms]
M-amp		
H-amp		

: 66.1

M



H-reflex

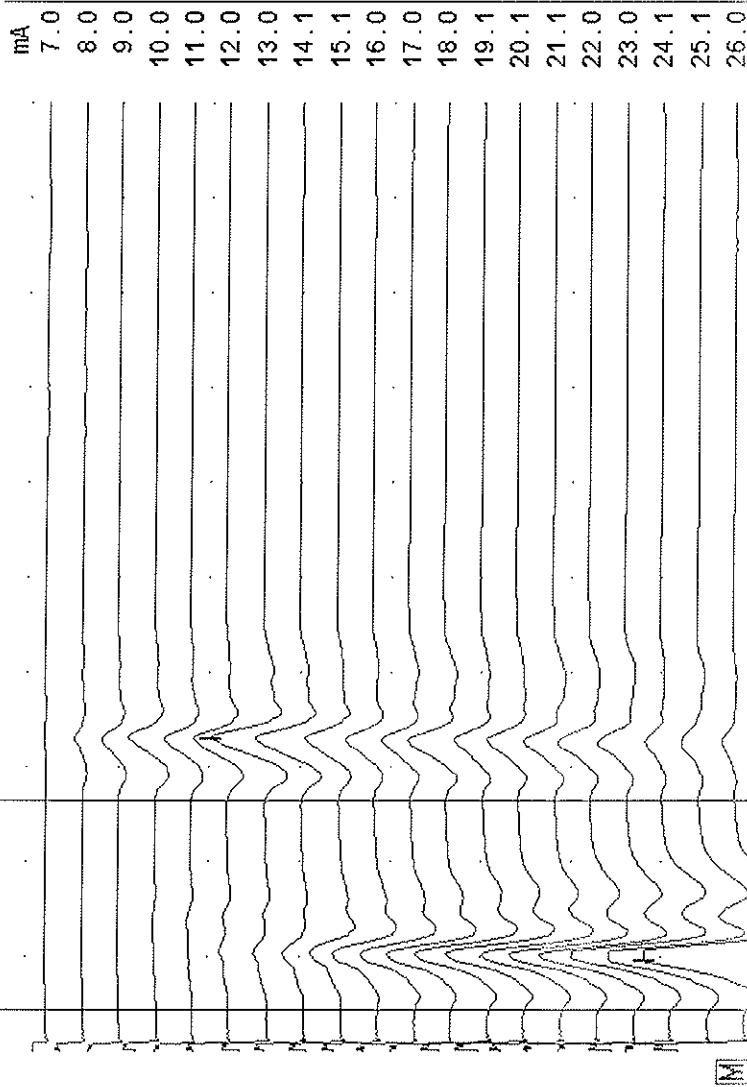
Right Tibialis

Office

claudia afonso (310)  
21/06/89 15/10/15

10 mV/D

10 ms/D



#Stim : 20  
M-lat : 4.3 [ms]  
M-ampl : 10.0 [mV]  
H-lat : 26.3 [ms]  
H-ampl : 5.8 [mV]  
H-M lat : 22.0 [ms]  
M-amp : 1.7  
H-amp

M





CV Sensory

Left Olfactorius (I)

Office claudia afonso (295)  
21/06/89 30/07/15

AVG: 0.4 mV/D  
INP: 5 mV/D

8 ms/D

Stim 1 \*  
Rec 1

Stim 2 \*  
Rec 2

Stim 3 \*  
Rec 3

Stim 4 \*  
Rec 4

Stim 5 \*  
Rec 5

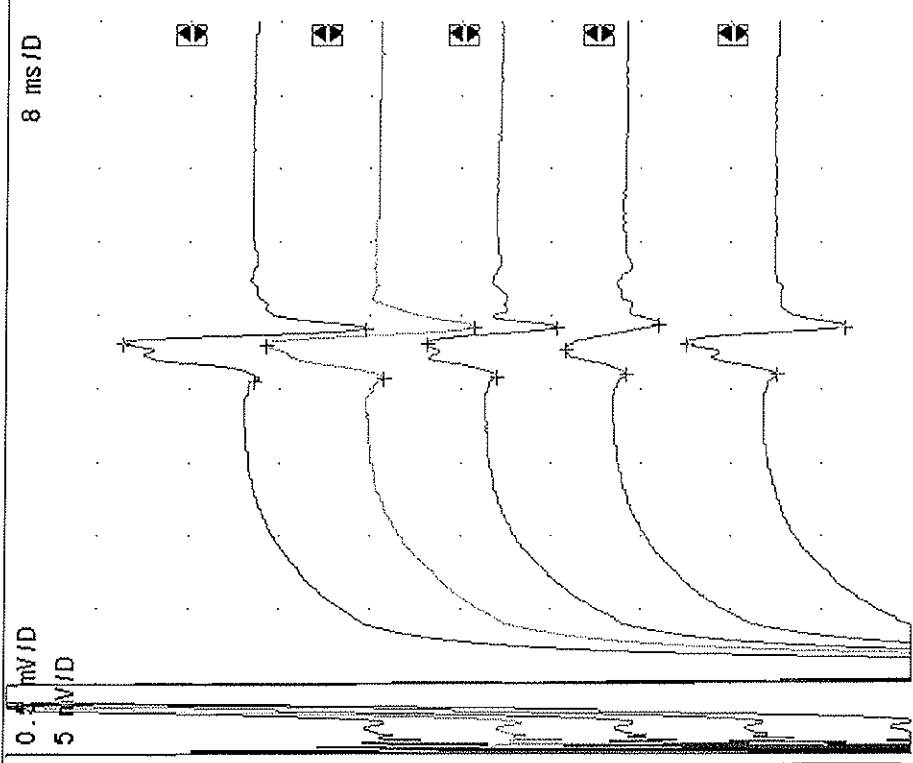
TEMP

DIST	LAT	CV	AMP
1	40.8		1181
1	41.2		980
1	41.3		613
1	41.7		421
1	41.7		753

Run 1 2 3 Mix AllCh

Note Edit texts

Right Left Fract/lonated



CV Sensory

Left Olfactorius (I)

Office

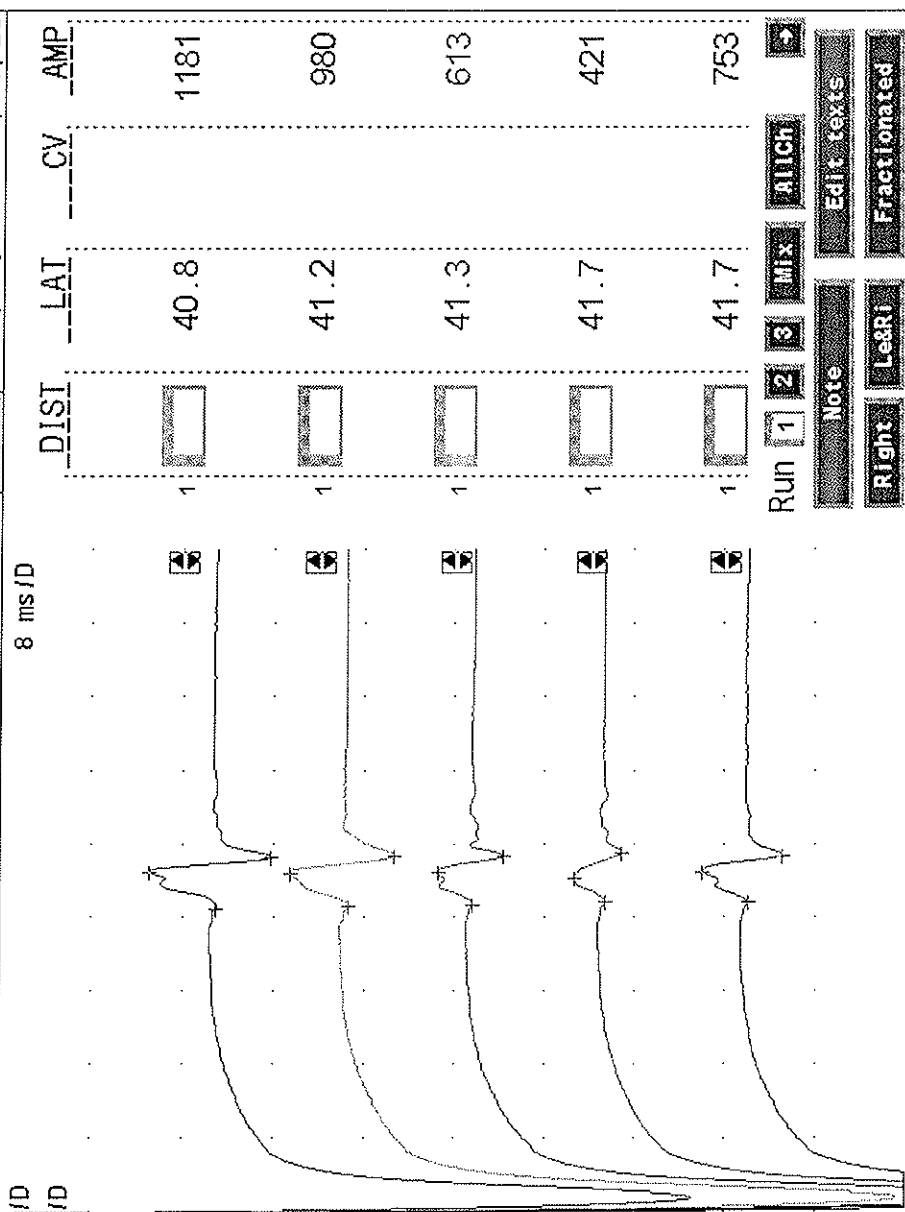
claudia afonso (295)  
21/06/89 30/07/15

AVG: 1 mV/D  
INP: 5 mV/D

8 ms/D

Stim 1	<input type="checkbox"/>	*
Rec 1	<input type="checkbox"/>	
Stim 2	<input type="checkbox"/>	*
Rec 2	<input type="checkbox"/>	
Stim 3	<input type="checkbox"/>	*
Rec 3	<input type="checkbox"/>	
Stim 4	<input type="checkbox"/>	*
Rec 4	<input type="checkbox"/>	
Stim 5	<input type="checkbox"/>	*
Rec 5	<input type="checkbox"/>	

TEMP ---



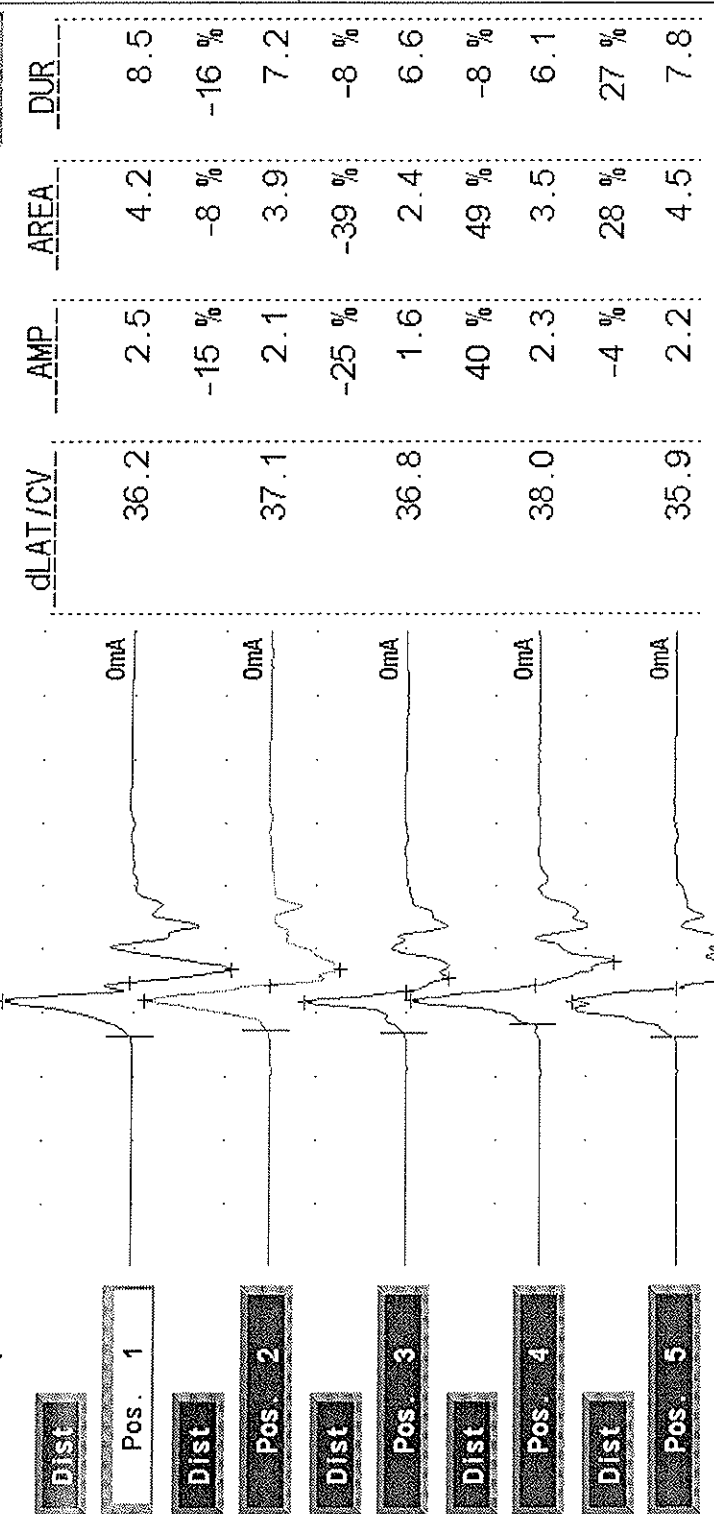
Run 1 2 3 Mix AllCh

Note Edit texts

Right Left Fractiomated

CV Motor Right Martins nnerv1 ines morgado (285) Office 22/06/92 04/06/15

Rec: Rec pos 10 ms/D



Dist	dLAT/CV	AMP	AREA	DUR
Pos. 1	36.2	2.5 -15 %	4.2 -8 %	8.5
Pos. 2	37.1	2.1 -25 %	3.9 -39 %	7.2
Pos. 3	36.8	1.6	2.4	6.6
Pos. 4	38.0	40 %	49 %	-8 %
Pos. 5	35.9	2.3 -4 %	3.5 28 %	6.1 27 %
Pos. 5		2.2	4.5	7.8

Run 1 2 3 Mix ALICh Note

Le&Ri H-reflex Edit texts

TEMP

CV Motor Right n.Option20 (note)

Office artiom poliakov (291)  
24/09/93 09/07/15

Rec: Rec pos 5 mV/D

30 ms/D

Long

Dist	Pos.	dLAT/CV	AMP	AREA	DUR
Dist	Pos. 1	109.8	0.1	44.5	189.8
Dist	Pos. 2	125.8	233 %	-35 %	-8 %
Dist	Pos. 3	132.8	0.3	29.1	173.8
Dist	Pos. 4	135.5	-61 %	97 %	-4 %
Dist	Pos. 5	144.8	0.1	57.2	166.8
Dist	Pos. 6	144.8	-33 %	-1 %	-2 %
Dist	Pos. 7	144.8	0.1	56.7	164.0
Dist	Pos. 8	144.8	67 %	-21 %	-6 %
Dist	Pos. 9	144.8	0.1	44.6	154.8

Run

TEMP ---

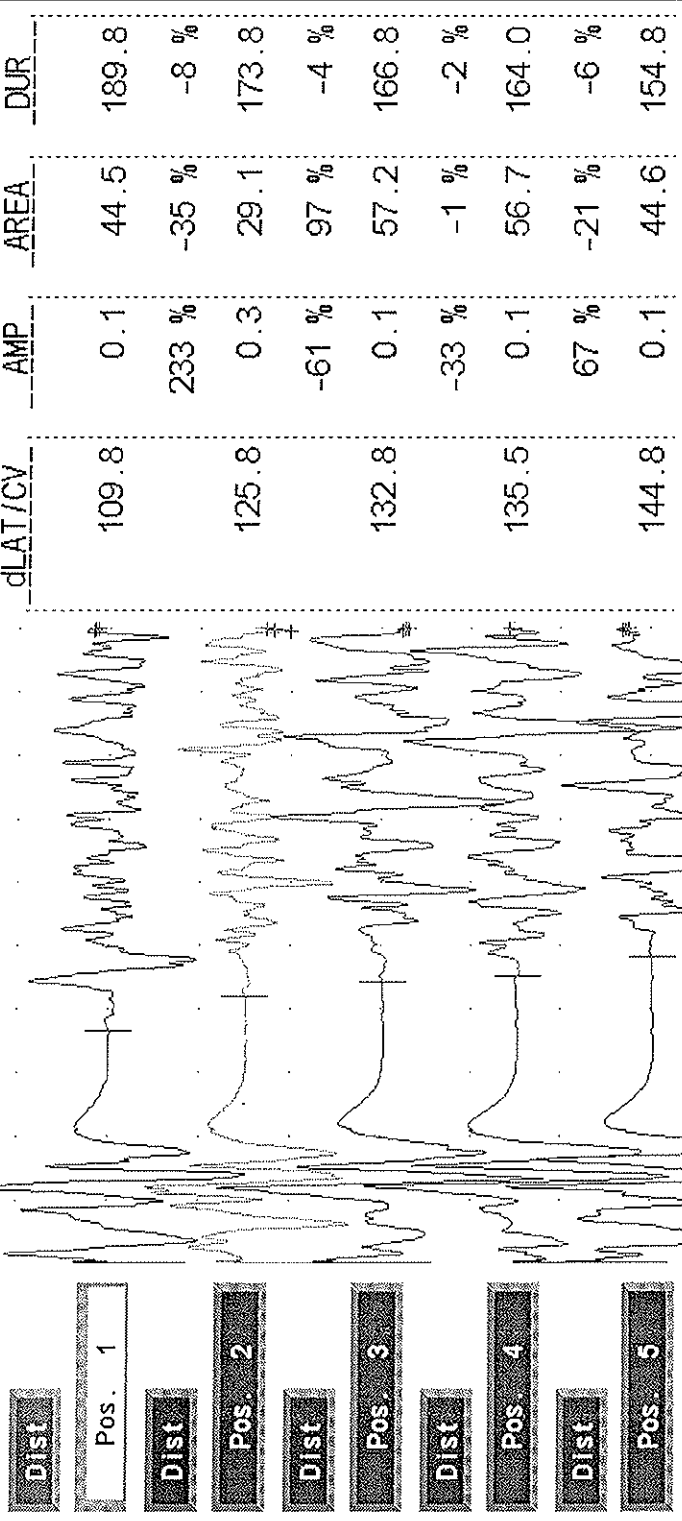
CV Motor Right n.Option20 (note)

Office artiom poliakov (291)  
24/09/93 09/07/15

Rec: Rec pos

30 ms/D

Long



RUN

H-reflex

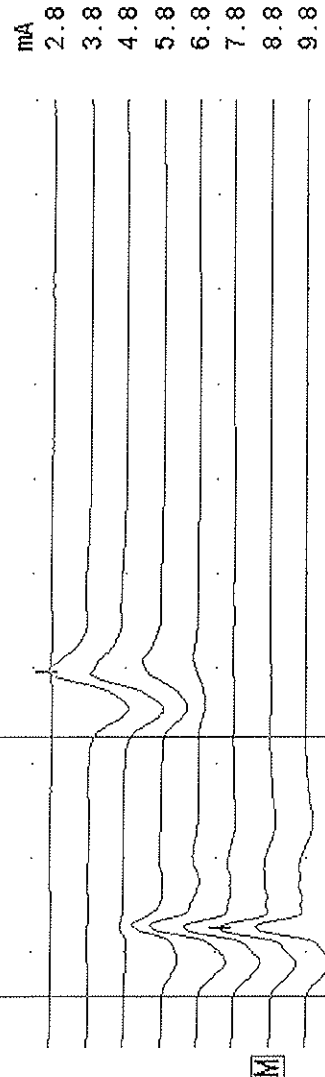
Left Tibialis

Office

artiom poliakov (291)  
24/09/93 09/07/15

20 mV/D

10 ms/D



#Stim	:	8
M-lat	:	5.3 [ms]
M-ampl	:	10.9 [mV]
H-lat	:	32.8 [ms]
H-ampl	:	9.2 [mV]
H-M lat	:	27.5 [ms]
M-amp	:	1.2
H-amp	:	

M

CV Sensory Left Opticus (II)

Office claudia afonso (298)  
21/06/89 27/08/15

AVG: 1 mV/D  
INP: 10 mV/D

8 ms/D

Stim 1 \*  
Rec 1

Stim 2 \*  
Rec 2

Stim 3 \*  
Rec 3

Stim 4 \*  
Rec 4

Stim 5 \*  
Rec 5

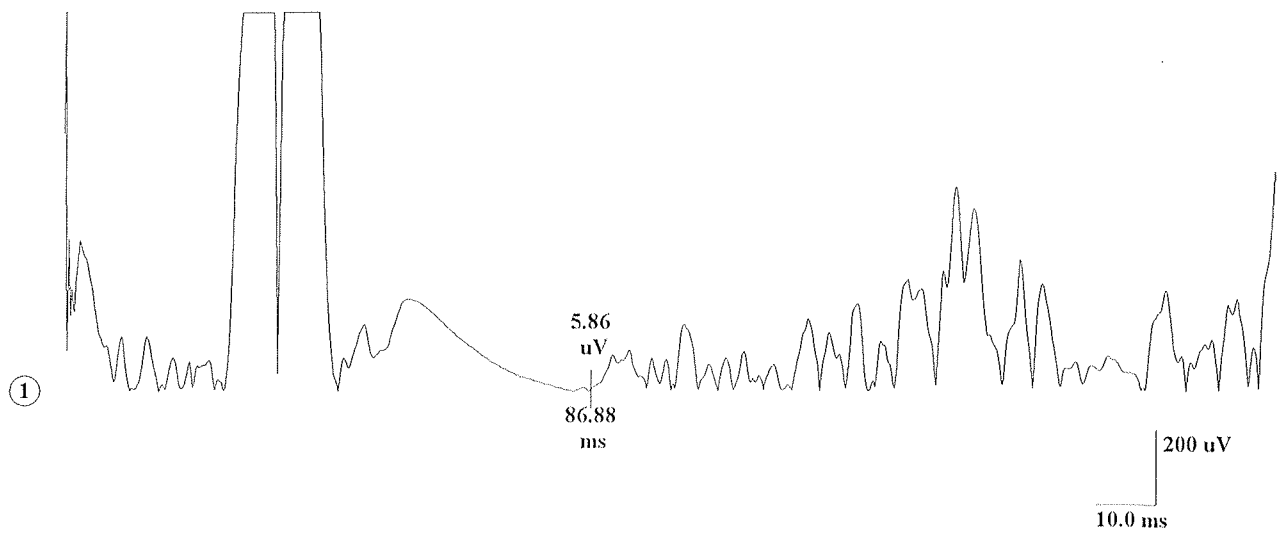
TEMP

DIST	LAI	CV	AMP
1	41.5		888
1	41.3		911
1	41.3		830
1	41.8		589
1	41.7		784

Run 1 2 3 Mix AllCh

Note Edit texts

Right Left Fractionated





SSR

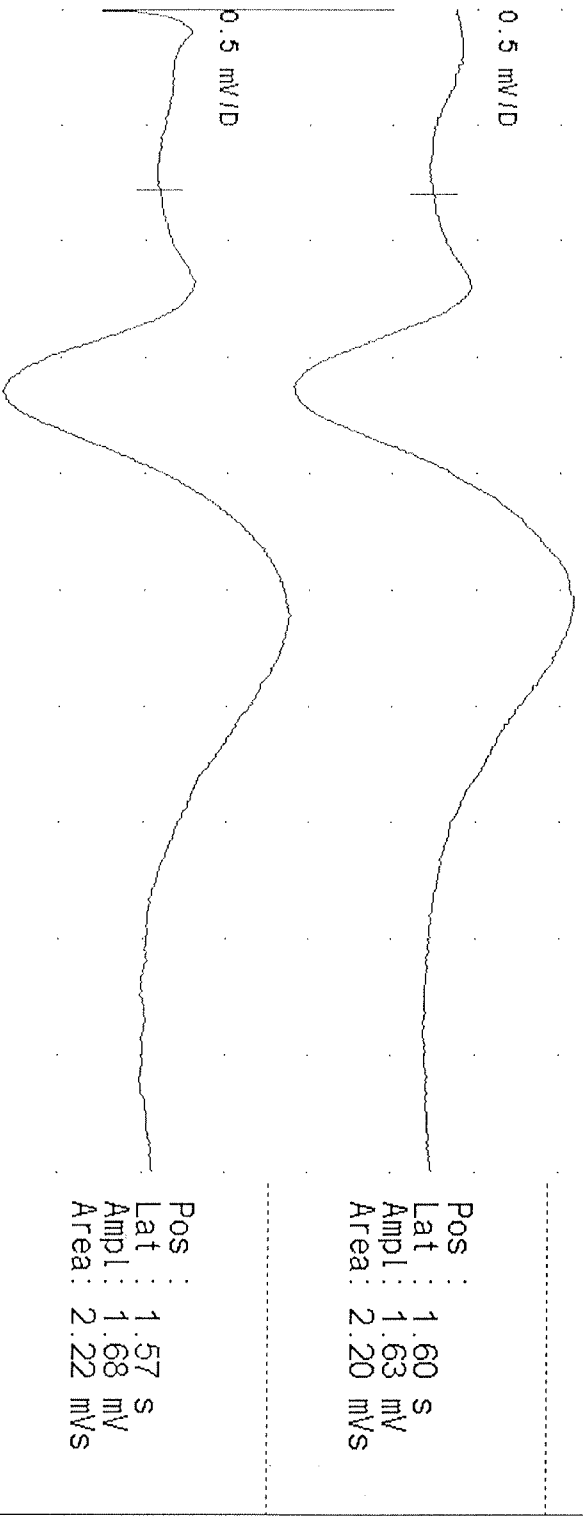
artiom poliakov (289)  
24/09/93 02/07/15

Test: 1

84.6 mA  
0.5 ms  
3 Hz

1 s/D

Intens.: 84.57 mA  
#Stim : 1



Note:

Run : 1 2 3 4 5

SSR

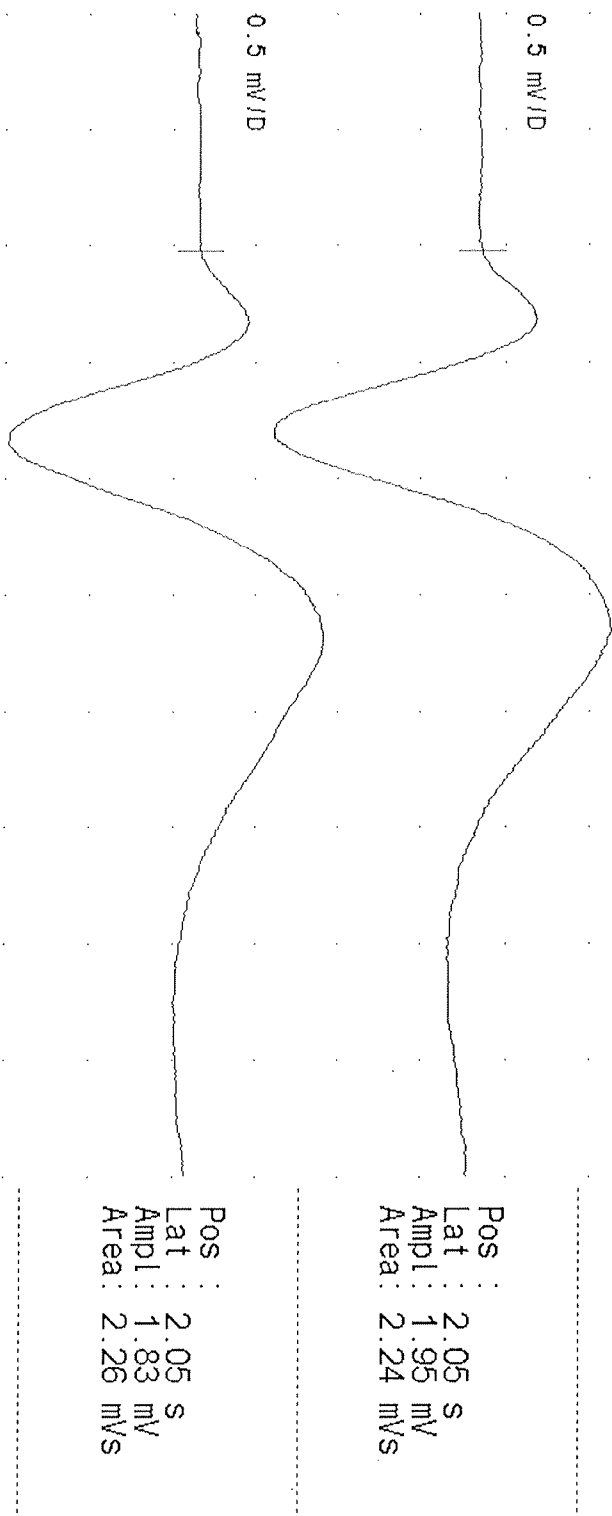
artiom poliakov (289)  
24/09/93 02/07/15

Test: 1

93.0 mA  
0.7 ms  
3 Hz

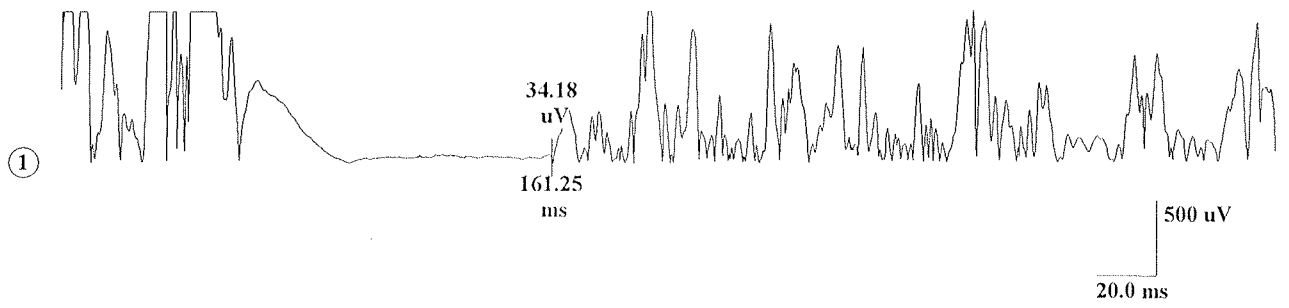
1 s/d

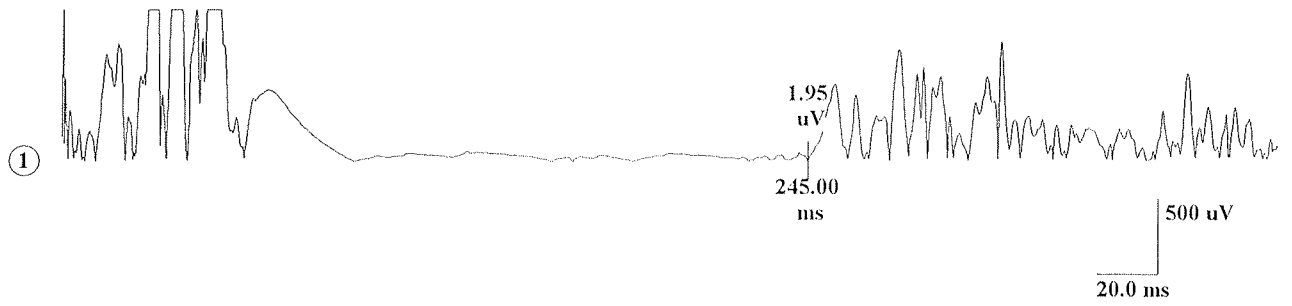
Intens.: 93.03 mA  
#Stim : 1

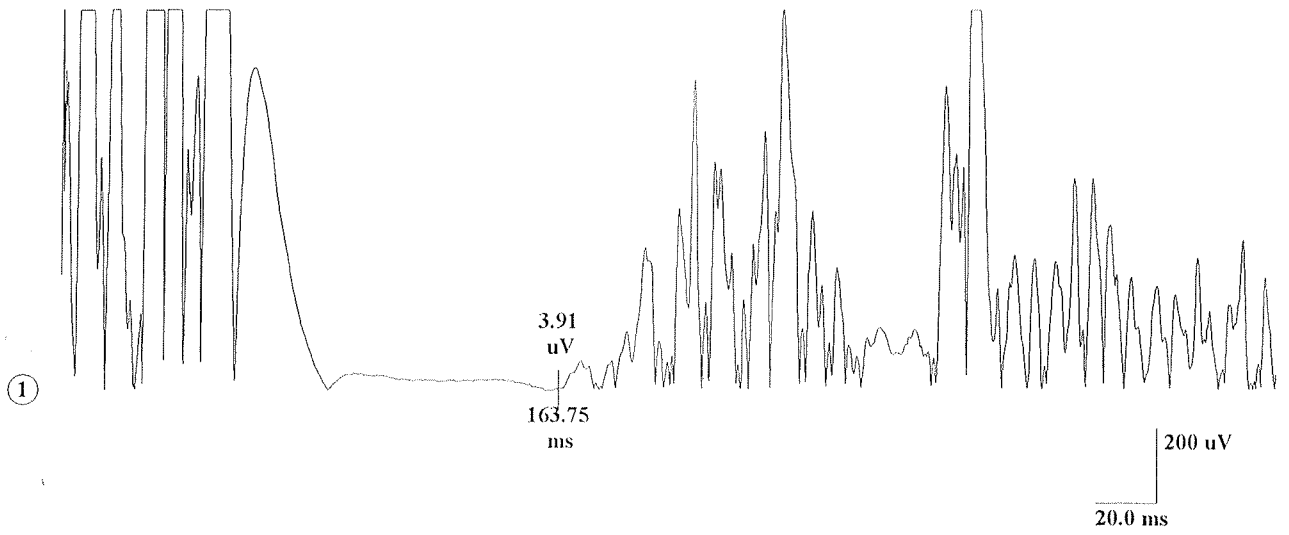


Note:

Run : 1 2 3 4 5







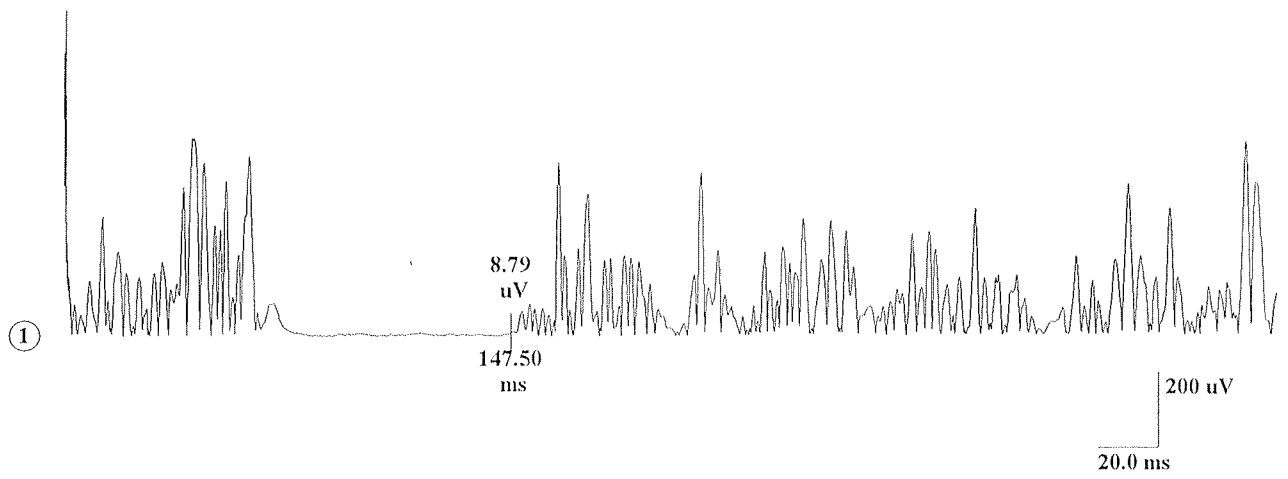
CV Motor Left Martins nnerv1 sara tanqueiro (268) 20/06/92 23/04/15

Dist	Pos.	1 mV/D	0.0 mA 0.2 ms Ext.	10 ms/D	dLAT/CV	AMP	AREA	DUR
Dist	Pos. 1				36.1	1.1 23 %	1.9 16 %	6.6 -3 %
Dist	Pos. 2				36.2	1.3 -34 %	2.2 -34 %	6.4 -8 %
Dist	Pos. 3				36.9	0.9 45 %	1.5 54 %	5.9 13 %
Dist	Pos. 4				36.2	1.3 -15 %	2.2 -23 %	6.7 -8 %
Dist	Pos. 5				36.7	1.1	1.7	6.2

Run 1 2 3 Mix ALLCh Note

Le&Ri H-reflex Edit texts

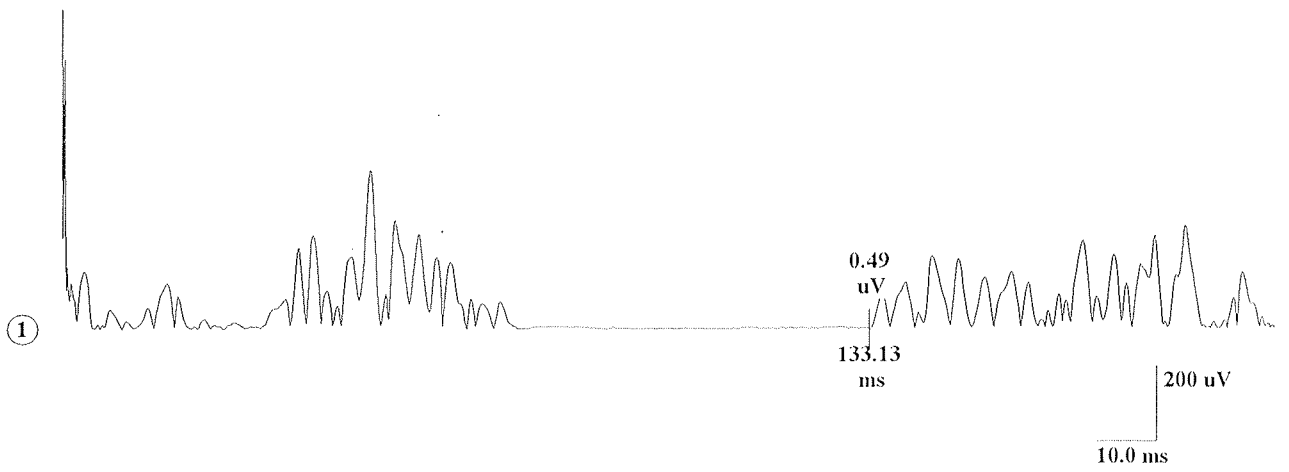
TEMP MANUAL



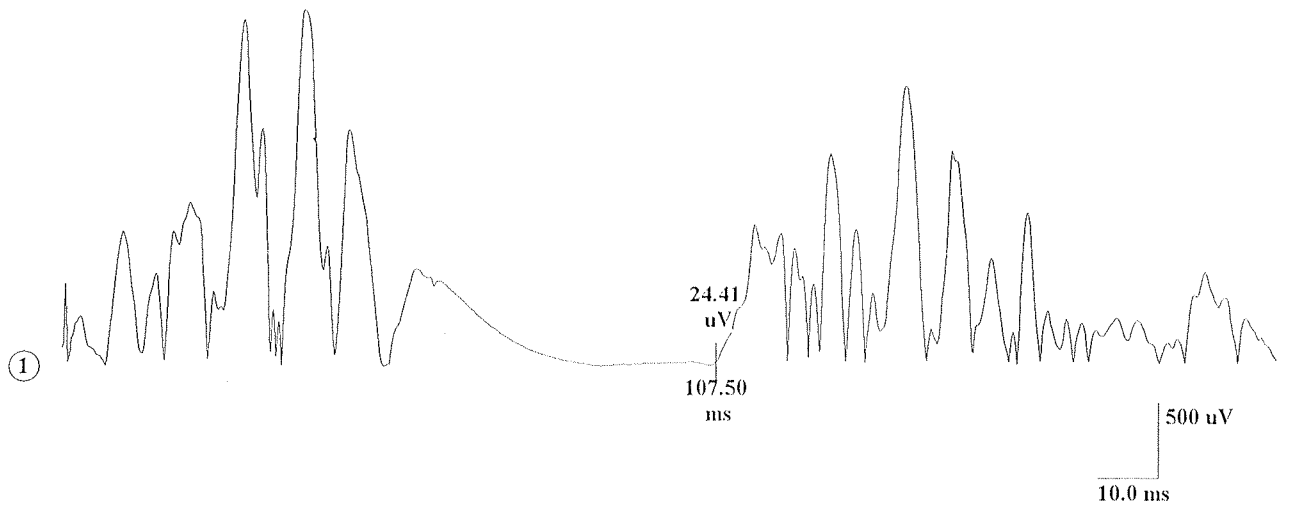
mikhael bart  
00000249

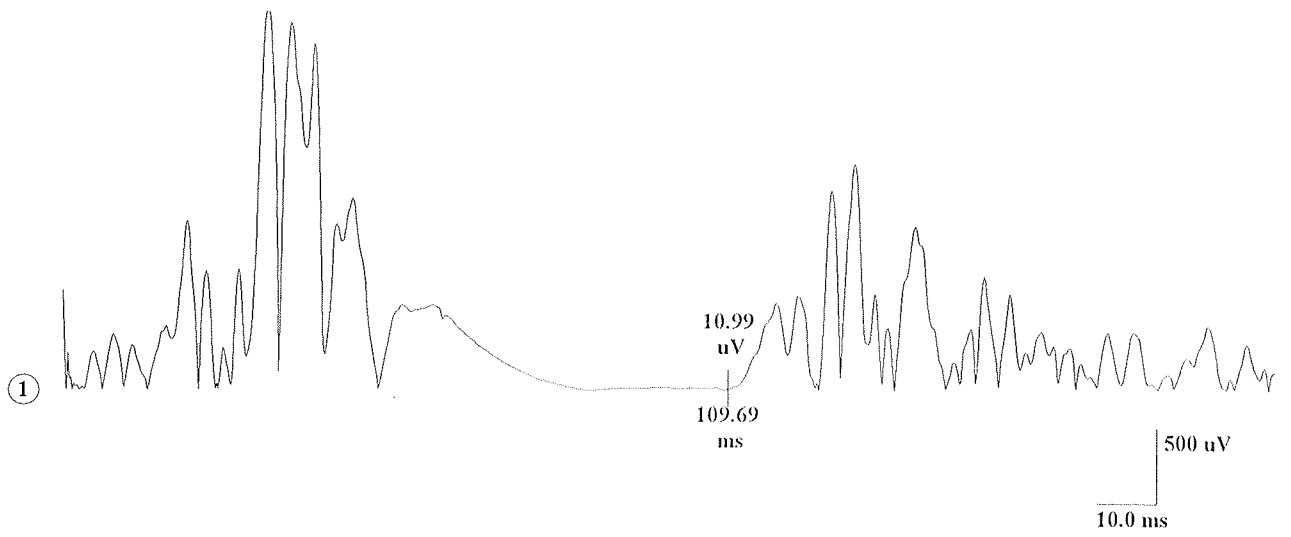
2 channel EMG

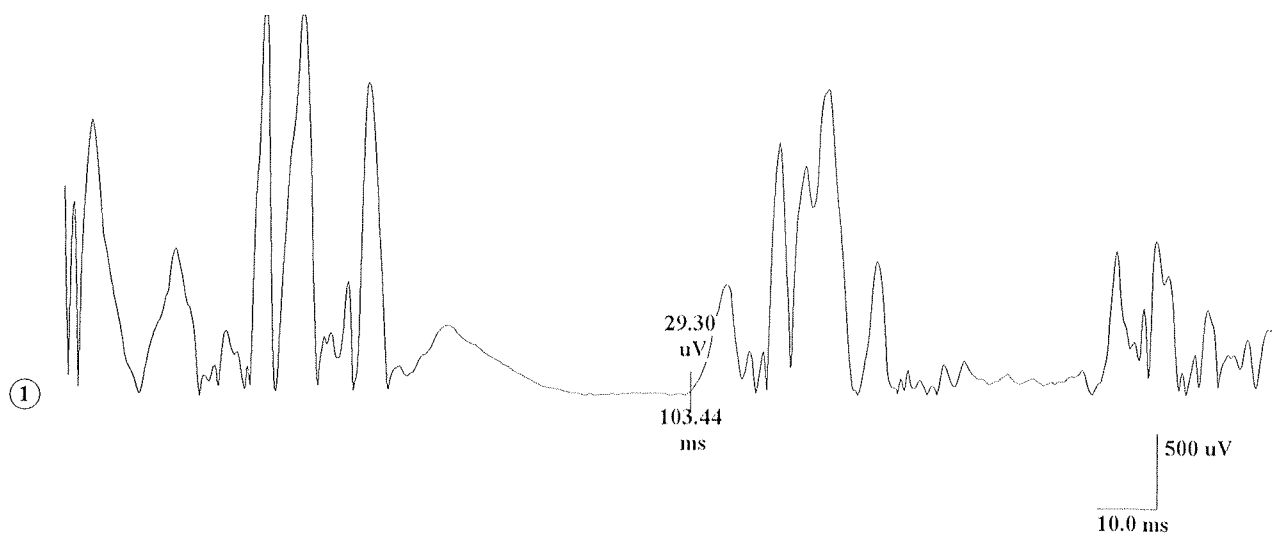
18/07/88  
05/03/15











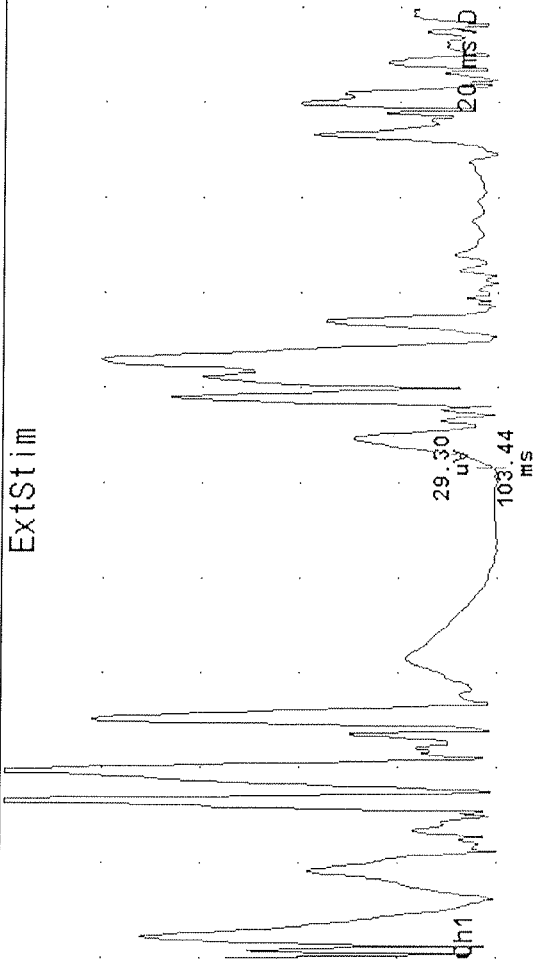
OSC

2 channel EMG

ines morgado (228)  
22/06/92 15/01/15

ExtStim

File 00000228.exp  
Export 0.0MB



OSC

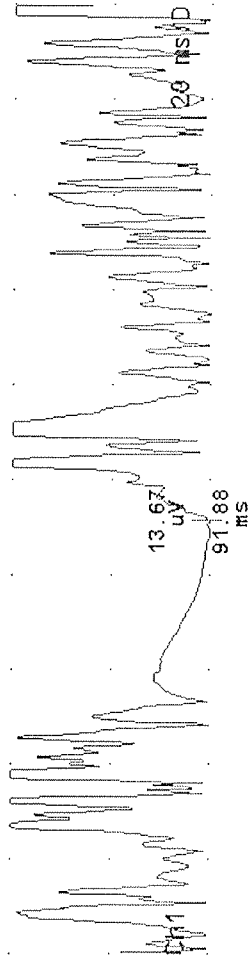
2 channel I EMG

ines morgado (228)  
22/06/92 15/01/15

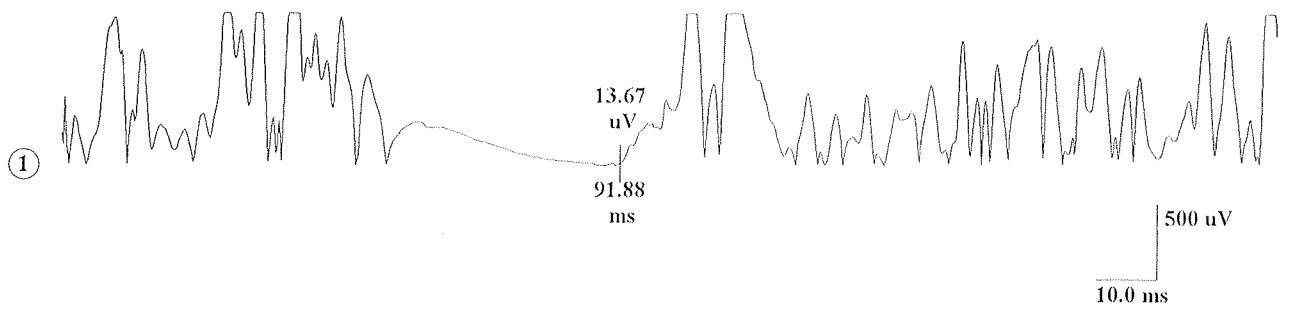
ExtStim

File 00000228.exp

Export 0.0MB



0.5 mV/D



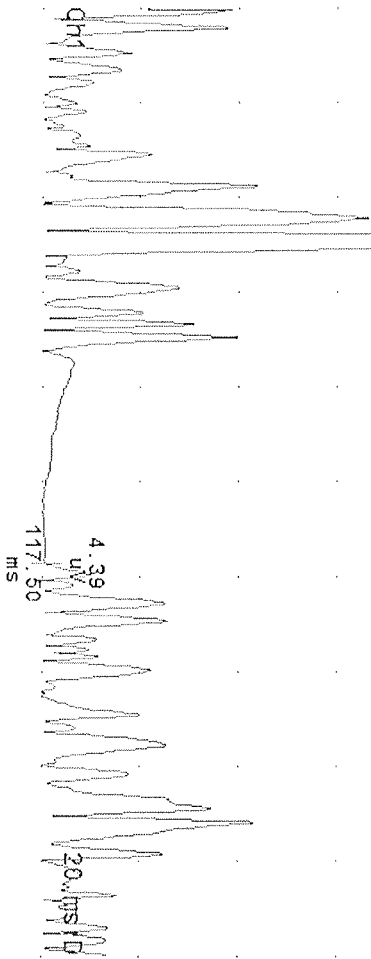
OSC 2 channel EMG

mikhael bart (225)  
18/07/88 08/01/15

ExtStim

File 00000225.exp

Export 0.0MB



0.1 mV/D

SSR

rui rodrigues (271)  
25/12/91 23/04/15

Test:1

86.3 mA  
1 ms  
3 Hz

1 s/D

Intens.:86.31 mA  
#Stim : 1

1 mV/D



Pos :  
Lat : 2.01 s  
Ampl : 1.52 mV  
Area : 1.91 mVs

1 mV/D



Pos :  
Lat : 2.10 s  
Ampl : 1.55 mV  
Area : 1.71 mVs

Note:

Empty rectangular box for notes.

Run :

1 2 3 4 5



SSR

sara tanqueiro (269)  
20/06/92 23/04/15

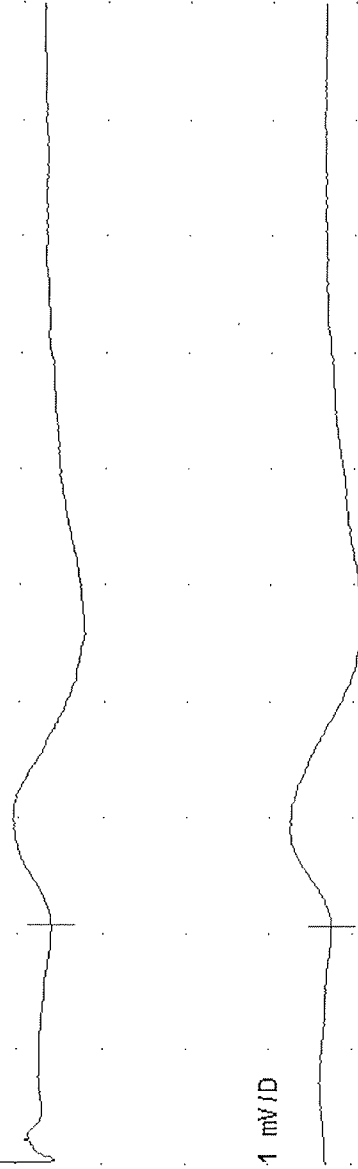
Test:1

74.6 mA  
0.5 ms  
3 Hz

1 s/D

Intens.:74.64 mA  
#Stim : 1

1 mV/D



Pos :  
Lat : 2.08 s  
Ampl : 825.2 uV  
Area : 975.8 mVms

1 mV/D



Pos :  
Lat : 2.06 s  
Ampl : 849.6 uV  
Area : 1.03 mVs

Note:

Run : 1 2 3 4 5